PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, A. ERNST-ZÜRICH, H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, W. SCHUMACHER-BONN, G. TISCHLER-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND OTTO RENNER

42. BAND, 1./2. HEFT

MIT 45 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 28. JULI 1953)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1953

Planta (Berl.)

Preis DM 32.—

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik.

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler.* Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä., von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim,* oder an *Professor Dr. Otto Renner,* (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzinger Straße 67.*

Springer-Verlag
Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Vertriebsvertretung im Ausland:
Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W.1

42. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 1./2. Heft

Seite

Feldmeier, I., und H. von Guttenberg, Über das Vorkommen von Wuchs- und Hemmstoffen in Samen und Keimpflanzen von Phaseolus vulgaris 1

Harder, R., Über den Einfluß der Tageslänge nach der photoperiodischen Induktion auf die Infloreszenzen von *Kalanchoë Bloßfeldiana.* Mit 6 Textabbildungen 19

Renner, O., Über Oenothera hybrida mut. helix. Mit 7 Textabbildungen . . 30

Schumacher, W., Weitere Beobachtungen über das Welken ephemerer Blüten. Mit 4 Textabbildungen 42

Paech, K., Über gewisse noch nicht identifizierte Inhaltsstoffe höherer Pflanzen. Mit 1 Textabbildung 56

Mothes, K., Ein Beitrag zur Assimilation N-haltiger Verbindungen durch Bäckerhefe. Mit 3 Textabbildungen 64

Ernst, A., Die Relation Antherenstellung/Pollenkorngröße bei Blütendimorphismus und das Kompatibilitätsproblem. Mit 10 Textabbildungen 81

Ullrich, H., Über das Quellungsverhalten von Holz als Substanz mit Ultrafilterstruktur in Abhängigkeit von Größe und Bau der Quellungsmittelmoleküle. Mit 4 Textabbildungen. 129

Bogen, H. J., Beiträge zur Physiologie der nichtosmotischen Wasseraufnahme. Mit 7 Textabbildungen 140

Hoffmann, C., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Remineralisierung des Phosphors bei Meeresalgen. Mit 3 Textabbildungen 156

Planta, Bd. 42, S. 1—18 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock.

ÜBER DAS VORKOMMEN VON WUCHS- UND HEMMSTOFFEN IN SAMEN UND KEIMPFLANZEN VON PHASEOLUS VULGARIS*.

Von

INGEBORG FELDMEIER und HERMANN v. GUTTENBERG.

(Eingegangen am 6. Januar 1953.)

I. Einleitung.

Über das Wesen, den Gehalt und die Wechselbeziehungen der in wachsenden Pflanzen vorkommenden Wuchs- und Hemmstoffe (WSe, HSe) herrscht noch keinerlei Klarheit. Was die WSe betrifft, so ist nicht daran zu zweifeln, daß einer davon die Indolylessigsäure (IES oder HA = Heteroauxin) ist. Sie läßt sich in Extrakten an ihrer Laugenbeständigkeit und Zerstörbarkeit durch Säuren sowie Erbsenenzym (EE) erkennen, auch gibt es für sie bei Konzentrationen ab etwa 10^{-5} g/cm^3 eine Farbreaktion. Daß daneben ein zweiter WS existiert, steht aber auch außer Zweifel. Wir haben einen solchen in verschiedenen Arbeiten nachgewiesen (GUTTENBERG 1942; DETTWEILER 1943; GUTTENBERG und LEHLE-JOERGES 1947; GUTTENBERG und BÜCHSEL 1943; GUTTENBERG und EIFLER 1952; WIEDOW und GUTTENBERG 1952). Er unterscheidet sich vom HA vor allem dadurch, daß er säure- und — wie wir jetzt zeigen konnten — auch EE-fest ist, hingegen durch Lauge zerstört wird. Einen säurefesten WS fanden u. a. auch AVERY, BERGER und WHITE (1945) in Kohlsorten, ferner ROBERGH und THOMAS (1949). LINSER (1951) konnte mit Hilfe der Adsorptionsanalyse in Sprossenkohlextrakten HA von anderen WSen trennen, die er aber nicht näher prüfte. Um was es sich bei unserem säure- und EE-festen WS handelt, ist mit Sicherheit noch nicht festzustellen. Er könnte mit KÖGLs Auxin a oder b (Aa) identisch sein; dafür spricht aber vorläufig nur seine Säurefestigkeit und die bevorzugte Löslichkeit im Alkohol. Mangels reiner Vergleichssubstanz sind weitere Untersuchungen derzeit kaum möglich. Wenn wir daher in unseren Veröffentlichungen den säurefesten WS als „Auxin" bezeichnen, so geschieht dies vorläufig nur, um ihn vom HA begrifflich zu unterscheiden.

Durch unsere oben angeführten Arbeiten suchten wir die von uns (GUTTENBERG 1942) aufgestellte Hypothese zu stützen, daß HA Auxin „aktiviere". Der Ausdruck wurde absichtlich sehr allgemein gewählt, da eine solche Aktivierung auf sehr verschiedenem Wege zustande

* Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. WILHELM RUHLAND zum 75. Geburtstag.

kommen kann. Zunächst könnte es sich um eine Verdrängung handeln, d. h. das HA könnte Plasmaorte des Auxins besetzen und dieses so befreien und wirksam machen. Die Aktivierung könnte aber auch darin bestehen, daß HA direkt oder indirekt Anlaß dazu gibt, daß eine vorhandene inaktive oder auch hemmende Substanz in eine fördernde verwandelt wird, oder aber, daß aus einem größeren Molekül der wirksame WS abgespalten wird. Schließlich könnte sich auch das HA selbst in ein anderes, säure- und enzymfestes Indolderivat verwandeln.

Die HSe (Antiauxine) der wachsenden Pflanze dürften mit dem Blastokolinen nichts zu tun haben. Diese sind verschiedener Natur, jene vermutlich ebenso einheitlich wie die WSe. Wohl als erster hat Stewart (1939) bei Cruciferen die hydrolytische Umwandlung eines HS in einen WS wahrscheinlich gemacht. Der in der Haferkoleoptile aufsteigende, an sich hemmende inaktive WS (iWS) wird nach Funke und Söding (1948) in der Koleoptilspitze in einen aktiven WS verwandelt und als Antiauxin bezeichnet. Pohl und Tegethoff (1951) glauben, daß der iWS eine Verbindung von WS und Skutellum-HS (Voss 1939) ist, und daß diese Substanz in der Koleoptilspitze gespalten wird, wobei der WS frei wird, während der HS verschwindet. Dieses Verschwinden könnte aber auch auf einer Umwandlung beruhen.

Auf alle Fälle muß jede WS-Untersuchung sich heute mit den drei Komponenten: Auxin, Heteroauxin und Hemmstoff (iWS oder Antiauxin) befassen, wenn Klarheit erreicht werden soll.

Bisher wurden solche Studien hauptsächlich an *Avena*-Koleoptilen gemacht. So vorteilhaft dieses Objekt auch für viele Experimente ist, so muß doch bemerkt werden, daß es sich um ein Organ ganz besonderer Art handelt. Die WS-Versorgung aus dem Endosperm über das Skutellum und damit das Problem des *auf*steigenden WS und seiner Verwandlung in einen absteigenden in der Koleoptilspitze stellen einen Sonderfall dar. Beim normalen Dikotylenkeimling erfolgt die WS-Zufuhr im Dunkeln zunächst aus dem Endosperm über oder aus den Kotyledonen in *ab*steigendem Sinne. Für das Epikotyl gilt am Licht das gleiche, da die Produktionsstätte der WS hier die apikale Knospe mit ihren jüngsten Blättern ist; im Dunklen freilich komplizieren sich auch hier die Verhältnisse.

Jedenfalls schien es angezeigt, nunmehr auf breiterer Basis mit Dikotyledonen zu arbeiten und an ihnen Vorkommen und Beziehungen der beiden WSe und des HS zu untersuchen. Dies hatte sich schon bei unseren ersten Versuchen mit *Coleus*-Internodien als ergebnisreich erwiesen; nunmehr wollten wir Keimpflanzen, und zwar zunächst *Phaseolus vulgaris* („Holländische Prinzeß") untersuchen. Um die Wirkstoffverteilung von allem Anfang an kennenzulernen, begannen wir mit der Untersuchung trockener und gequollener Samen.

II. Methodik.

Zur Klärung der gestellten Fragen war es vor allem notwendig, eine Trennung der drei Stoffe zu erreichen. Zu diesem Zwecke verwendeten wir zunächst zweierlei Extraktionsmittel, nämlich 96% Äthylalkohol und Äther (pro narcosi, peroxydfrei). Schon aus früheren Studien war uns bekannt, daß der säurefeste WS und ein HS sich besonders in Alkohol, HA dagegen viel besser in Äther löst. Bei der Trennung der im Alkoholextrakt vorhandenen testbaren Substanzen versuchten wir zunächst neutrale Stoffe, und damit möglichst die hemmenden Substanzen, auszuscheiden, und dann durch Ansäuerung die WS-Säuren gesondert zu erfassen. Eine Schwierigkeit ergibt sich daraus, daß es auch saure HSe gibt (Hemberg 1952). Zur Unterscheidung von Aa und HA stand neben der Säure-Laugentrennungsmethode jetzt auch die Behandlung mit Erbsenenzym zur Verfügung. Im einzelnen wurde folgendermaßen gearbeitet.

a) Herstellung der Extrakte.

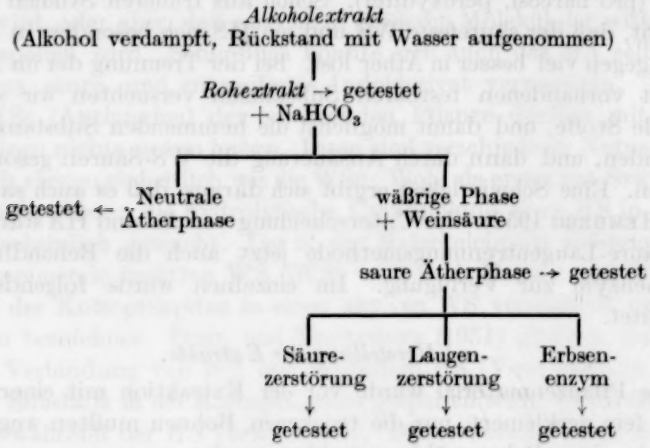
Das Pflanzenmaterial wurde vor der Extraktion mit einer Rasierklinge fein zerkleinert, nur die trockenen Bohnen mußten wegen ihrer Härte in einer Pulvermühle gemahlen werden.

Für die Herstellung der *Ätherauszüge* verwendeten wir auf 1 g Extraktionsgut 10 g Lösungsmittel und 1 Tropfen 10%iger Essigsäure. Zunächst wurde 6 Std bei Zimmertemperatur extrahiert und anschließend 2 Std bei einer Temperatur von 40—42° C am Rückflußkühler, so daß sich der Äther in stetigem Sieden befand, aber eine Überhitzung vermieden wurde. Nach dem Erkalten dekantierten bzw. pipettierten wir vorsichtig den Äther ab, ließen ihn auf einem Wasserbad, dessen Temperatur 60° C nicht übersteigen darf, abdampfen und nahmen den Rückstand mit 2 cm³ Wasser auf. Je 0,5 cm³ wurden für den Test des Rohextraktes, zur Säure-Laugenzerstörung und zur Behandlung mit EE verwendet. Der für den Test des Rohextraktes bestimmte Rückstand wurde auf dem Wasserbade erwärmt und mit 0,5 cm³ verflüssigtem 3%igem Agar aufgenommen. 0,65 cm³ davon wurden zu einer 1 mm dicken Schicht auf einer Glasplatte 2,5 × 2,5 cm ausgegossen und bis zum Test in einer Petrischale aufbewahrt.

Bei der Bereitung der *Alkoholauszüge* wurde das Pflanzenmaterial mit der 2—3fachen Menge 96%igem Äthylalkohol versetzt und 2 Std am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Erkalten filtrierten wir durch ein Wattebäuschchen und verdampften das Lösungsmittel. Der Rückstand wurde mit 2,5 cm³ Wasser aufgenommen, 0,5 cm³ davon sofort für den Rohtest abpipettiert und nach der beim Ätherextrakt beschriebenen Weise mit Agar weiter verarbeitet. Die restlichen 2 cm³ unterzogen wir nach Verdünnung mit etwa 6 cm³ Wasser einer Trennung. Hierfür wählten wir eine von Larsen (1939) angegebenen Methode, durch die die sauren Stoffe von den neutralen geschieden werden.

Die wäßrige Lösung wurde nach Zusatz von 1,5 cm³ gesättigter Natriumbicarbonatlösung dreimal mit 15 cm³ Äther ausgeschüttelt; auf diese Weise wurden die Neutralstoffe in den Äther übergeführt. Diese „*neutrale Ätherphase*" wurde nach Abtrennung der „*wäßrigen Phase*" und nach Abdampfen des Äthers mit 2 cm³ Wasser aufgenommen und $^1/_4$ davon zum Test verwendet. Die „wäßrige Phase" wurde mit 2,3 cm³ 10%iger Weinsäurelösung angesäuert und erneut dreimal mit

der doppelten Äthermenge ausgeschüttelt und das Lösungsmittel vertrieben. Von dem Rückstand dieser „*sauren Ätherphase*" wurden nach Zugabe von 2 cm³ Wasser je 0,5 cm³ getrennt verarbeitet. Einen Teil testeten wir direkt, außerdem wurde die Säure- und Laugenzerstörung sowie die Erbsenenzymbehandlung durchgeführt. Der Trennungsgang sei durch folgendes Schema veranschaulicht.



Zur Identifizierung von *Auxin* und *Heteroauxin* wurden die Bohnenextrakte mit Säure und Lauge nach dem Verfahren von ERXLEBEN (1935) gekocht. Wir kochten erst 0, 5cm³ des wäßrigen WS-Extraktes mit 5 cm³ $^{n}/_{1}$ HCl bzw. 5 cm³ $^{n}/_{1}$ KOH $3^{1}/_{2}$ Std am Rückflußkühler. Nun wurde nach REINERT (1950) weitergearbeitet und die Lösung mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung oder mit 10%iger Weinsäurelösung auf p_H 3,9 gebracht (Lyphanstreifen). Anschließend schüttelten wir sie dreimal mit 15 cm³ Äther aus, den wir verdampften. Den Rückstand nahmen wir mit 0,5 cm³ Wasser auf und bereiteten ihn mit 0,5 cm³ 3%igem Agar zum *Avena*-Test vor.

Das *Erbsenenzym* bereiteten wir nach der Methode von MOEWUS (1949). Erbsen der Sorte „Brunsviga" wurden im Dunkelhaus aufgezogen. Nach 7 Tagen hatten die Epikotyle eine Länge von 8—10 cm³ erreicht. Sie wurden abgeschnitten, gewogen und in einer Eis-Kochsalzmischung 30 min bei —8° C gefroren. Dann zerstampften wir sie in einem Mörser und setzten die gleiche Menge Aqua bidest. hinzu. Der Extrakt wurde nun 24 Std in den Eisschrank gestellt, anschließend durch Filtration von den Pflanzenresten befreit und bis zu seiner Verwendung wieder im Eisschrank aufbewahrt. Zum Test wurde 0,5 cm³ der zu prüfenden WS-haltigen wäßrigen Lösung mit der gleichen Menge EE-Extrakt versetzt und nach 5stündiger Inkubationszeit im Thermostaten bei 37° C die Hälfte des Gemisches mit 0,5 cm³ 3%igem Agar verarbeitet. Der Erbsenextrakt zerstörte reine Heteroauxinlösung von der Konzentration 10^{-4} g/cm³ vollständig (*Avena*test).

b) Testmethoden.

Wir benutzten zum Nachweis der WS und HS den *Avena*-Test (AT) nach WENT (1928) und den Kressewurzeltest (KWT) nach MOEWUS (1949).

Für den AT wurde Hochzuchthafer „Edelweiß" verwendet. Die Anzucht erfolgte im Dunkelhaus bei einer Temperatur von 21° C und 80% Luftfeuchtigkeit. Wenn die Koleoptilen nach etwa 60 Std eine Länge von 2,2—2,8 cm erreicht

hatten, wurde getestet. Die Versuchsdauer betrug für WS-haltige Lösungen 2 bis $2^1/_2$ Std. Dann zeigten die Koleoptilen die maximalen Krümmungen. Waren innerhalb dieser Zeit keine Reaktionen eingetreten, z. B. bei den mit Alkohol-Rohextrakten oder mit der neutralen Phase getesteten Objekten, ließ sich eine HS-Wirkung vermuten, und wir beließen die Agarplättchen weitere $2^1/_2$ Std.

Für jede Versuchsserie wurden nach Möglichkeit 12 Koleoptilen verwendet, die zur genauen Messung der Winkel durch Auflegen auf Positivpapier photographiert wurden.

Der KWT wurde im Thermostaten ausgeführt. In mit Aqua dest. ausgekochten Petrischalen legten wir zwei Lagen Fließpapier und sterilisierten sie teils trocken bei 120° 2 Std oder durch Wasserdampf bei 100°. Zum Test wurde einfach destilliertes Wasser verwendet, da vergleichende Versuche zeigten, daß Verwendung von Aqua bidest. nicht nötig war. In jede Schale verteilten wir etwa 100 ausgelesene Kressesamen und ließen sie bei 27° C keimen. Nach etwa 22 Std hatten die am raschesten wachsenden Wurzeln eine Länge von 7—8 mm erreicht. Aus jeder Schale entnahmen wir die besten 10—12 Keimlinge mit 4,5—5,5 mm langer Wurzel und legten sie in neue Petrischalen, deren Fließpapier mit 5 cm^3 Testlösung, bzw. Aqua dest. für den Kontrollversuch, getränkt war. Nach 17 Std wurden die Wurzeln gemessen und die Hemmung oder Förderung im Verhältnis zur Wasserkontrolle in Prozenten berechnet. Große Schwierigkeiten bereiteten uns eine Zeitlang Wachstumshemmungen, die durch verschiedene Fließpapiere hervorgerufen wurden. Die Wurzeln erwiesen sich äußerst empfindlich gegen gebleichtes und mit rauher Oberfläche versehenes Papier.

Unsere Kontrollversuche mit Heteroauxin der Konzentrationen 10^{-5} bis 10^{-13} g/cm^3 stimmten gut mit den von Moewus angegebenen Werten überein; eine danach entworfene Standardkurve wich kaum von der von Moewus ermittelten, dagegen etwas von der von Tegethoff (1951) aufgestellten ab. Die Konzentration 10^{-5} g/cm^3 hemmte das Wurzelwachstum gänzlich, die Hemmung nahm bis HA 10^{-9} ab, um dann in eine Förderung (Maximum bei 10^{-10}) umzuschlagen; bei 10^{-13} erlosch der Effekt.

III. Versuchsergebnisse.

Um die Versuche auf eine breite Basis zu stellen, wurde der WSe und HS-Gehalt sowohl von ruhenden und gequollenen Samen als auch von jüngeren und älteren Keimlingen untersucht. Bei diesen wurde ferner der Gehalt der einzelnen Teile geprüft sowie der Einfluß des Lichtes studiert.

1. Ruhender Samen.

Es wurde schon mehrfach versucht, aus Leguminosensamen WSe zu extrahieren. Guttenberg und Lehle-Joerges (1947) untersuchten Wasser- und Ätherextrakte von *Pisum sativum*, *Phaseolus coccineus*, *Vicia Faba* und *Lupinus luteus*, erzielten aber „keine testbare Wuchsstoffausbeute". Boysen-Jensen (1940/41) hielt die Bohnen für ausgesprochen WS-arm und gewann höchstens 0,005 WAE aus dem Ätherrohextrakt von je 100 g Samen. Auch Jahnel (1937) konnte durch Diffusionsversuche aus Lupinensamen keine im *Avena*- oder *Cephalaria*-Test wirksamen WS erhalten. Avery, Creighton und Shalucha (1940) fanden ebenfalls, daß Äther nicht das geeignete Lösungsmittel sei, um WS aus ruhendem Endosperm zu gewinnen.

a) Ätherextrakt. Die Versuche von Guttenberg und Lehle-Joerges wurden von uns wiederholt und das Ergebnis auch für *Phaseolus vulgaris* bestätigt. Im KWT ergab der Ätherextrakt von 100 Bohnen = 28 g nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur die in Tabelle 1 angeführten Werte.

Der Ätherextrakt aus ruhendem Samen ruft nach der Tabelle im KWT eine ganz schwache Wachstumsförderung hervor. Dies zeigt an, daß nur sehr geringe WS-Mengen extrahiert wurden. In der Konzentration 10^0 sind, an unserer Standardkurve gemessen, etwa 10^{-9} g/cm³ HA entsprechende WS-Mengen vorhanden. Für die Anwesenheit eines HSes gibt die Tabelle 1 keine Anhaltspunkte. Auch ein AT ergab keine Winkel. Der Ätherextrakt rief jedoch in diesem Test Winkel von —18° (± 1,69°) hervor, wenn wir nur 3 g Samenmaterial unter Zusatz von 3 Tropfen 10% iger Essigsäure mit Äther (30 cm³) ansetzten. Der Extrakt enthielt also nunmehr WS. Dies dürfte folgende Ursache haben. Durch die Essigsäure wird die Wasserstoffionenkonzentration erhöht und der WS in die undissoziierte Form gedrängt. Nur in dieser Form ist eine totale Lösung in Äther möglich, nicht aber in der dissoziierten. Es besteht aber auch die Möglichkeit, daß eine in den Samen vorhandene inaktive WS-Vorstufe durch den Säurezusatz in einen WS verwandelt wurde. Jedenfalls erklärt die mangelnde Ansäuerung die früheren Mißerfolge. Auch spielt nach Wildman und Bonner (1948) bei Extraktion mit Äther dessen Wassergehalt eine Rolle. Wasserhaltiger Äther löst besser als wasserfreier.

Tabelle 1. *Ätherextrakt aus ruhenden Samen* (KWT %). 13. 3. 1951.

Konzentration	10^0	10^{-1}	10^{-2}
Förderungsprozente	+1,2	+9,2	+3,1

Die Verdünnungsstufe 10^0 entspricht 20 Stück Bohnen pro 1 cm³ Testflüssigkeit. KWT%: Prozente der Wachstumsänderung im Kressewurzeltest; + Förderung; — Hemmung.

b) Alkoholextrakt. Im KWT hemmt der Alkoholextrakt im Gegensatz zum Ätherrohextrakt das Wachstum. 40 Stück gemahlene Bohnen (= 12,5 g) mit 96% Alkohol 2 Std am Rückflußkühler gekocht, der Rückstand mit 5 cm³ Wasser aufgenommen, zeigten das Ergebnis der Tabelle 2.

Tabelle 2. *Alkoholextrakt aus ruhenden Samen* (KWT %). 9. 5. 1951.

Konzentration	10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
Hemmung	—59	—18,5	—4,5	—3	+1,5

Im *Avena*-Test entsprachen die Resultate der ungereinigten Alkoholextrakte etwa den Werten der nicht angesäuerten Ätherauszüge: 3 g Material ergab keine, 6 g geringe positive Krümmungen. Erst nach Auf-

teilung des Rohextraktes in die saure und neutrale Ätherphase wurden in der sauren negative Winkel erhalten, in der neutralen geringe positive (Tabelle 3).

Tabelle 3. *Alkoholextrakt aus ruhenden Samen* (AT°*). 28. 8. 1951.

Rohextrakt	Saure Phase	Neutrale Phase
6 g Material	12 g Material	12 g Material
$+2{,}1^0$ ($\pm 1{,}12$)	$-13{,}7^0$ ($\pm 0{,}86^0$)	$+2{,}4^0$ ($\pm 1{,}19^0$)

* AT°: *Avena*-Test, Winkelgrade; — negative, + positive Winkel.

Die erste enthielt also WS, die zweite etwas HS. Um zu hohe WS-Konzentrationen im Rohextrakt oder in der neutralen Phase kann es sich nicht handeln, da die *Avena*-Koleoptile auf Verdünnungen dieser Auszüge nicht mehr reagierte.

Überraschend ist die Tatsache, daß sich WS und HS im Rohextrakt durchaus nicht additiv verhalten. In diesem Falle müßte auch der Rohextrakt negative Winkel (etwa -11^0) ergeben. Wir werden der Tatsache, daß die saure Phase einen WS-Anstieg zeigt, auch später noch begegnen und sie dann besprechen.

Die bevorzugte Löslichkeit einiger HS in Alkohol ist schon mehrfach festgestellt worden (Kaufmann 1943; Funke 1943). In unserem Versuch dürften solche für die Hemmwirkung entscheidend verantwortlich sein, vielleicht aber auch ein in Alkohol löslicher, säurefester WS, von dem später noch gesprochen werden soll.

2. Samen nach 12stündiger Quellung.

3 g Material mit Äther unter Essigsäurezusatz extrahiert, verursachten im AT Winkel von $-16{,}2^0$ ($\pm 1{,}37^0$). Gegenüber dem zur gleichen Zeit getesteten Trockenmaterial ist nur eine geringe, im Rahmen der Fehlergrenze liegende WS-Abnahme festzustellen.

3. Angekeimter Samen.

Die Bohnen wurden nach Reinigung in Aqua dest. und 8stündiger Quellung bei Tageslicht und Zimmertemperatur in Petrischalen auf feuchtem Fließpapier der Keimung überlassen. Nach 48 Std wurden gleichmäßig angekeimte Samen, bei denen das Würzelchen eine Länge von etwa 5 mm erreicht hatte, nochmals in Aqua dest. kurz gespült und dann extrahiert.

Pohl (1936) fand im *Avena*-Endosperm eine der Keimzeit proportionale Abnahme des WSes. Ebenso ergaben Untersuchungen des Mais-Endosperms von Avery, Creighton und Shalucha (1940), daß sich die Summe der extrahierbaren WS im Verlaufe der Keimung verringere.

Die Wasserextrakte von Guttenberg und Lehle-Joerges (1947) aus Früchten von *Zea mays* und *Triticum sativum* wiesen dagegen nach nur 24stündiger Quellung gegenüber den Trockenfrüchten einen weit reicheren WS-Gehalt auf. Erst nach einer Keimungsdauer von 48 Std war er stark gesunken. Bei den Gramineen findet also im Verlaufe der Keimung erst eine Mobilisierung und dann eine Abwanderung der WS aus dem Endosperm in den Embryo statt.

Bei *Phaseolus* zeigten sowohl Äther- als auch Alkoholextrakte angekeimter Bohnen im AT eher eine Zunahme an WS als eine Abnahme (Tabellen 4 und 5).

Tabelle 4. *Angesäuerte Ätherextrakte aus 2 g angekeimter Bohnen* (AT°).

Datum	Rohextrakt	Erbsenenzym	Säurezerstörung	Laugenzerstörung
16. 7. 51	−14,4° (±1,14)	−0,9° (±1,05)	−1,3° (±0,74)	−22,4° (±0,63)

a) Ätherextrakt. Wie Tabelle 4 zeigt, liegt im Ätherextrakt fast ausschließlich ein laugenfester WS vor, der durch Säure und EE zerstört wird, also HA entspricht. Auffallend ist der hohe WS-Wert nach Laugenzerstörung gegenüber dem des Rohextraktes. Vermutlich wurde HA durch Hydrolyse aus einer anderen Substanz neu gebildet. Entsprechendes hatten auch Guttenberg und Joerges bei Keimlingen anderer Pflanzen gefunden. Die Ergebnisse von Avery, Berger und Shalucha (1941) sowie von Haagen-Smit, Leech und Bergren (1941) sind damit nicht unmittelbar zu vergleichen, da diese Autoren die Laugenbehandlung am Material selbst, wir aber an den Extrakten vornahmen.

Anschließend untersuchten wir auch den WS-Gehalt der Samenschalen. Von 24 Std lang angekeimten Bohnen wurde 1,5 g Schalenmaterial gewonnen, dieses bei 35° C getrocknet und dann mit Äther extrahiert. Der AT ergab starke negative Winkel (−15° und −20°), nicht mehr aber nach Behandlung mit EE. Die Samenschalen enthalten also HA. Offenbar geht während der Keimung solches durch Diffusion verloren. Die Bestätigung dieser Annahme brachte eine Prüfung des Keimwassers. Solches wurde roh oder gekocht im KWT getestet. Es ergab in beiden Fällen 52—53% Hemmung, die in der Verdünnung 10^{-4} in eine Förderung von 5—8% umschlug. Somit war (und zwar schon nach 4 Std) WS in das Keimwasser übergegangen. HSe sind nicht

Tabelle 5. *Alkoholextrakt aus angekeimten Bohnen* (AT°).

Datum	Material	Rohextrakt	Saure Phase	Säure-zerstörung	Laugen-zerstörung	Neutrale Phase
19. 7. 51	5 g	−0,9° (±1,07)	−14,7° (±1,09)			+3,8° (±1,05)
15. 11. 51	10 g	−8,7° (±0,88)	−33,4° (±1,65)	−13,2° (±0,50)	−22,4° (±1,33)	+8,1° (±0,83)

vorhanden, denn ein mit Natriumbicarbonat auf p_H 8,5—9 eingestelltes Keimwasser ergab nach der Ätherausschüttelung im aufgenommenen Rückstand im KWT weder Hemmung noch Förderung.

b) Alkoholextrakt. Der Alkoholrohextrakt angekeimter Samen ergab im AT nur geringe Winkel (Tabelle 5), doch trat nach Abtrennung der neutralen Phase eine starke WS-Wirkung auf. Bei der Identifizierung fanden wir zweierlei WSe: einen laugenfesten (HA) und einen säurefesten; der erste überwog. Die Winkelsumme (—13,2°) + (—22,4°) = —35,6° entspricht im Versuch vom 15.11. annähernd dem Gesamtwinkel in der sauren Phase: —33,4°. Die neutrale Phase enthielt einen HS. Dieser erzeugt viel kleinere Winkel, als man erwarten möchte. Obwohl er im Rohextrakt die fördernden Stoffe weitgehend kompensiert, bewirkt er isoliert nur kleine positive Winkel. Offenbar erfolgte hier nicht nur eine Zunahme des laugenfesten WSes (HA), sondern auch des säurefesten, vielleicht durch Säurehydrolyse. Es ist sehr wohl möglich, daß dieser aus einem Teil des HSes entstanden ist. Für das HA kommt das nicht in Frage, es häuft sich ja auch bei Laugenbehandlung des Ätherextraktes an, der keinen HS enthält.

4. Etiolierte Keimpflanzen.

Die Untersuchung etiolierter Keimpflanzen wurde vorgenommen, als die Pflanzen eine Höhe von 6—8 cm erreicht hatten. Die Wurzeln und einzelne braun und unansehnlich gewordene Kotyledonen wurden entfernt, der Rest zerkleinert und nach der angegebenen Methode weiter verarbeitet. Weil so das Material teils mehr, teils weniger Kotyledonen enthielt, waren die verschiedenen Extrakte untereinander nicht einwandfrei vergleichbar; daher wurden später die einzelnen Pflanzenteile gesondert verarbeitet. Aus dem ersten Material wurden daher lediglich orientierende Alkoholauszüge hergestellt (Tabelle 6).

In diesem Versuch vermochte das EE nur einen geringen Teil (24%) des extrahierten WS zu zerstören, es war also neben HA reichlich ein weiterer WS vorhanden. Die saure Phase zeigte, wie bei den Samen, den weitaus größten WS-Anteil; die neutrale Phase ergab nur geringe positive Winkel, enthielt also wieder etwas HS.

Nach Larsen (1944) enthalten etiolierte Pflanzen im Gegensatz zu Lichtpflanzen reichliche Mengen eines neutralen WSes, den er als Indolacetaldehyd erkannte, da er sich durch das Schardinger-Enzym der

Tabelle 6. *Alkoholextrakte aus etiolierten Keimpflanzen* (AT^0).

Datum	Material	Rohextrakt	Saure Phase	Erbsenenzym	Neutrale Phase
25. 6. 51	11 g	—0,4° (±1,55)	—14,3° (±0,87)		+5,0° (±0,87)
3. 7. 51	8 g	—3,0° (±1,48)	—19,5° (±1,18)	—14,8° (±1,09)	+1,4° (±1,45)

Milch zu Indolylessigsäure oxydieren ließ. Wir versuchten daher, die neutrale Phase mit roher Milch zu behandeln. Der Aldehyd soll sich darin binnen 2 Std bei 60° C zur Indolylessigsäure oxydieren. Bei Kontrollversuchen riefen aber frische, nichtsterilisierte Kuhmilch sowie frische Frauenmilch schon ohne Zusatz von Pflanzenextrakt im AT negative Winkel hervor. Diese Wirkung muß auf ein in der Milch enthaltenes Hormon zurückzuführen sein, das noch näher zu untersuchen wäre. Wir konnten daher die Prüfung auf Indolacetaldehyd leider nicht durchführen.

5. Etiolierte Hypokotyle.

10—15 gekeimte Bohnen wurden eingetopft und im Dunkelhaus gezogen. Nach 5—6 Tagen hatten ihre Hypokotyle eine Länge von 6—8 cm erreicht, während die Epikotyle mit dem sich entwickelnden Primärblättchen noch von den Kotyledonen umschlossen waren. Nach Entfernung der übrigen Pflanzenteile wurden die Hypokotyle fein zerschnitten und extrahiert.

a) Ätherextrakt. Zunächst sei das Ergebnis von Ätherextrakten beschrieben (Tabelle 7). Es ergibt sich, daß sie viel HA und nur wenig

Tabelle 7. *Ätherextrakte aus etiolierten Hypokotylen* (AT°).

Datum	Material	Rohextrakt	Erbsenenzym	Säurezerstörung	Laugenzerstörung
		1. Kaltextrakt (+ 2° C) mit Säurezusatz.			
12. 7. 51	1,5 g	−17,3° (± 1,19)	−2,9° (± 0,77)		−20,6° (± 1,8)
		2. Warmextrakt mit Säurezusatz (s. Methodik).			
12. 7. 51	1,5 g	−24,8° (± 2,56)	−3,1° (± 0,88)		−24,5° (± 1,47)
12. 9. 51	2 g	−15,5° (± 1,20)		−0,5° (± 0,58)	

säure- und enzymfesten WS enthalten. Vergleicht man die auf kaltem und warmem Wege gewonnenen Rohextrakte, die am 12. 7. in einer Serie getestet wurden, so ist die WS-Ausbeute beim Warmextrakt nur wenig größer. Das Ergebnis ist also ein anderes als das, das Wildman und Bonner (1948) an *Avena-Koleoptilen* erzielten. Diese ergaben bei Kaltextraktion durch Äther (0° C) nur die halbe WS-Ausbeute wie bei Warmextraktion. Aus diesen und anderen Gründen nahmen sie für die HA-Produktion einen bei erhöhter Temperatur bevorzugt verlaufenden enzymatischen Prozeß an. Bei der Koleoptile liegen aber ganz andere Verhältnisse vor, da hier aus aufsteigendem iWS HA freigemacht wird.

Im Gegensatz zu den ruhenden Samen (Tabelle 1) erhielten wir aus etiolierten Hypokotylen auch ohne Säurezusatz WS. Es ist zu vermuten, daß die eigene Azidität dieser Hypokotyle hier die Dissoziation hemmt.

b) Alkoholextrakt. Wieder erscheint im Alkoholextrakt (Tabelle 8) neben laugenfestem WS auch ein säure- und enzymfester. Seine Menge

Tabelle 8. *Alkoholextrakte aus etiolierten Hypokotylen* (AT⁰).

Datum	Material	Rohextrakt	Saure Phase	Erbsenenzym
11. 7. 51	3,5 g	−6⁰ (±1,59)	−13,7⁰ (±1,43)	−4,6⁰ (±1,65)
17. 7. 51	1,5 g	−6,2⁰ (±1,52)	−15,8⁰ (±1,32)	−9,3⁰ (±1,82)

Datum	Material	Säurezerstörung	Laugenzerstörung	Neutrale Phase
11. 7. 51	3,5 g	−5,1⁰ (±1,29)	−11,4⁰ (±1,33)	−4⁰ (±1,33)
17. 7. 51	1,5 g			

ist aber deutlich geringer als in anderen Pflanzen; somit enthält das bloße Hypokotyl nicht viel von diesem Stoff, er muß reichlicher in den Kotyledonen vorhanden sein.

Die neutrale Phase ergab hier, im Gegensatz zu den früheren Versuchen, schwache negative Winkel; ein HS ist also hier nicht vorhanden. Fehlt ein solcher, so bleibt aber unbekannt, wieso der Rohextrakt viel schwächer wirkte als die saure Phase. Das führt zu dem Schluß, daß die Zunahme des WS in der sauren Phase durch Säurehydrolyse eines iWS entstanden ist.

6. Hypokotyle von Lichtpflanzen.

Die Keimpflanzen wurden erst im Dunkeln gezogen, bis sie eine Länge von 6—8 cm erreicht hatten und darauf im Versuchshaus bis zu ihrer Verarbeitung 3 Tage unter normalen Lichtverhältnissen kultiviert. Wieder bildeten 6—8 cm lange Hypokotyle das Extraktionsgut. Die Lichthypokotyle ergaben im Ätherrohextrakt etwas geringere WS-Mengen als die etiolierten (Tabelle 9). Besonders hat der laugenfeste

Tabelle 9. *Ätherextrakt mit Säurezusatz* (s. Methodik) *aus Hypokotylen von Lichtpflanzen* (AT⁰).

Datum	Material	Rohextrakt	Erbsenenzym	Säurezerstörung	Laugenzerstörung
18. 7. 51	1,5 g	−17,7⁰ (±0,90)	−3,3⁰ (±0,88)	−4,3⁰ (±1,30)	−13,8⁰ (±0,95)

Anteil (HA) abgenommen, der Gehalt an dem zweiten WS ist eher etwas erhöht.

b) Alkoholextrakt. Vergleicht man das Ergebnis dieses Alkoholextraktes (Tabelle 10) mit dem des Alkoholextraktes aus etiolierten Hypokotylen (Tabelle 8), so bemerkt man eine sehr starke Zunahme des säurefesten WS, der im AT jetzt nahezu ebenso große Krümmungswinkel wie der laugenfeste zeigt. Die Werte der EE-Versuche stimmen gut mit denen der Säurezerstörung überein. *Am Licht ist also offenbar der säurefeste WS vermehrt worden, während der laugenfeste abnimmt.*

Tabelle 10. *Alkoholextrakte aus Hypokotylen von Lichtpflanzen* (AT°).

Datum	Material	Rohextrakt	Saure Phase	Erbsenenzym
27. 6. 51	2,5 g		−18,3° (±1,82)	−12,1° (±0,43)
6. 7. 51	3,5 g	−7,1° (±1,89)	−20° (±1,51)	−13,4° (±0,99)
29. 8. 51	3,5 g	+2,3° (±1,47)	−17,4° (±1,38)	−12,7° (±1,15)

Datum	Material	Säurezerstörung	Laugenzerstörung	Neutrale Phase
27. 6. 51	2,5 g	−13,6° (±1,12)	−15,5° (±0,93)	
6. 7. 51	3,5 g	−15,8° (±1,114)	−16,9° (±2,20)	+1,6° (±1,15)*
29. 8. 51	3,5 g			

* Zu diesem Versuch wurden 7 g Pflanzenmaterial verwendet.

7. Etiolierte Kotyledonen.

Noch gesunde Kotyledonen 5—6 Tage alter und etwa 8 cm hoher Keimpflanzen wurden zerkleinert und extrahiert.

a) Ätherextrakt. In den Monaten September und Oktober wurden mehrfach Ätherauszüge hergestellt. Die Koleoptilen reagierten darauf gar nicht oder so schwach, daß sich eine weitere Aufarbeitung des Extraktes nicht lohnte. Dagegen ergab eine im Juli durchgeführte Alkoholextraktion Erfolge.

b) Alkoholextrakt. Der Alkoholextrakt enthielt wieder einen laugen- sowie einen säure- und EE-festen WS. HA war reichlicher vorhanden (Tabelle 11). Die Kotyledonen der etiolierten Pflanzen haben also

Tabelle 11. *Alkoholextrakt aus etiolierten Kotyledonen* (AT°).

Datum	Material	Rohextrakt	Saure Phase	Erbsenenzym
12. 7. 51	2 g	−6,8° (±1,73)	−24,2° (±2,52)	−14,5° (±0,93)

Datum	Material	Säurezerstörung	Laugenzerstörung	Neutrale Phase
12. 7. 51	2 g	−7,9° (±1,50)	−20,8° (±1,36)	+6,7° (±1,90)

5—6 Tage nach der Keimung noch namhafte WS-Mengen aufzuweisen. Sie dürfen also tatsächlich als Speicherorgane für WS betrachtet werden.

8. Kotyledonen der Lichtpflanzen.

Die am Licht ergrünten Kotyledonen wurden, soweit sie nicht bräunlich verfärbt waren, zur Extraktion verwendet. Die Pflanzen waren zuerst 5 Tage im Dunkelhaus gewachsen und anschließend im Gewächshaus 3 Tage dem Sonnenlicht ausgesetzt gewesen.

a) Ätherextrakt. Trotz des Herbstes wurde aus den Kotyledonen mit Äther reichlich WS erhalten, der überwiegend aus HA bestand (Tabelle 12).

Tabelle 12. *Ätherextrakt mit Säurezusatz aus Kotyledonen von Lichtpflanzen* (AT°).

Datum	Material	Rohextrakt	Erbsenenzym	Säurezerstörung	Laugenzerstörung
14. 9. 51	2 g	−26,6° (± 1,33)	−8,6° (± 0,96)	−3,7° (± 0,95)	−23,7° (± 1,24)

b) Alkoholextrakt. Auch der WS-Gehalt der Alkoholauszüge ist auffallend groß (Tabelle 13). Im Gegensatz zum Ätherextrakt ist der säure- und EE-feste Anteil entsprechend dem bisher beschriebenen Alkoholextraktversuchen vermehrt. Im Vergleich mit den verdunkelten Kotyledonen ergibt sich, daß auch diese *am Licht den säurefesten WS vermehren.* Die neutrale Phase der Alkoholextrakte enthält, im Gegensatz zu den Hypokotylen, HS (positive Winkel in Tabellen 11 und 13).

Tabelle 13. *Alkoholextrakte aus Kotyledonen von Lichtpflanzen* (AT°).

Datum	Material	Rohextrakt	Saure Phase	Erbsenenzym
3. 7. 51	2 g	+2,8° (± 0,98)		−10,6° (± 1,56)
29. 8. 51	1,5 g	+4,2° (± 1,36)	−26,9° (± 1,45)	−12,7° (± 0,86)
29. 9. 51	2 g	+0,4° (± 2,46)	−28,1° (± 1,63)	−18,5° (± 1,95)

Datum	Material	Säurezerstörung	Laugenzerstörung	Neutrale Phase
3. 7. 51	2 g	−12,8° (± 1,31)	−12,6° (± 1,38)	
29. 8. 51	1,5 g		−14,5° (± 0,95)	+2,8° (± 0,97)
29. 9. 51	2 g	−15,0° (± 0,71)	−22,1° (± 0,91)	+8,4° (± 1,61)*

* Für diesen Versuch wurden 12 g Pflanzenmaterial verwendet.

9. Pastenversuche an Hypokotylen von Lichtpflanzen.

6—8 cm hohe, im Dunkeln gewachsene Bohnenpflanzen wurden 2 Tage im Versuchshaus dem Tageslicht ausgesetzt. Das mittlere Drittel der Hypokotyle bestrichen wir sodann mit einer HA-Wollfettpaste (2‰). Inner- und oberhalb dieser Zone konnten wir schon nach wenigen Stunden Verkrümmungen bemerken. Nach dreitägiger Einwirkung — die Pflanzen blieben während dieser Zeit im Versuchshaus — schnitten wir die Hypokotyle in ihrer ganzen Länge ab und befreiten sie von Salbenresten. Dazu verwendeten wir in Xylol getränkte Wattebäuschchen und danach noch Äther. Dann wurde das Material zerkleinert und wie früher aufgearbeitet.

a) Ätherextrakt. Der Ätherauszug aus Pastenpflanzen zeigte im Rohextrakt im ganzen keine größeren Winkel als die Extrakte unbehandelter Pflanzen (vgl. Tabellen 14 und 9). Hemmungserscheinungen infolge WS-Überdosierung können beim Test nicht aufgetreten sein, da bei der Verwendung größeren Pflanzenmaterials die negativen Krümmungen nicht zurückgingen, sondern stiegen. Der laugenfeste WS hat sich nicht

Tabelle 14. *Ätherextrakt mit Säurezusatz aus Hypokotylen von Pastenpflanzen* (AT°).

Datum	Material	Rohextrakt	Erbsenenzym	Säurezerstörung	Laugenzerstörung
7. 9. 51	3 g	−22,6° (± 0,77)	−20,6° (± 0,74)	−19,1° (± 1,40)	−15,8° (± 1,32)
13. 9. 51	2 g	−18,8° (± 1,54)	−13,5° (± 1,88)	−12,2° (± 1,4)	−16,9° (± 1,76)

vermehrt, *dagegen ist der säure- und EE-feste WS um ein vielfaches angereichert worden.*

Ferner fällt besonders auf, daß der Rohextrakt jetzt große negative Winkel erzeugt. Der Versuch bestätigt die Tatsache, daß nach HA-Behandlung säurefester WS (Aa) aktiviert wird.

b) Alkoholextrakt. Der Alkoholextrakt ergab im Prinzip das gleiche Ergebnis (Tabelle 15). Sehr auffallend ist wieder, daß der Rohextrakt

Tabelle 15. *Alkoholextrakte aus Hypokotylen von Pastenpflanzen* (AT°).

Datum	Material	Rohextrakt	Saure Phase	Erbsenenzym
26. 6. 51	2,5 g	−16,5° (± 1,07)	−18,7° (± 1,76)	−16,5° (± 1,05)
7. 7. 51	2,5 g	−15,4° (± 0,64)		
7. 9. 51	3 g	−19,2° (± 1,36)	−26,0° (± 2,06)	

Datum	Material	Säurezerstörung	Laugenzerstörung	Neutrale Phase
26. 6. 51	2,5 g	−16,4° (± 1,13)	−11,6° (± 0,47)	−9,2° (± 1,28)
7. 7. 51	2,5 g	−13° (± 1,86)	−14,9° (± 2,17)	
7. 9. 51	3 g			−7,4° (± 1,34)

sofort starke negative Winkel bewirkt. Ferner zeigte sich, daß jetzt der sonst stets nachweisbare HS verschwindet, denn auch die neutrale Phase ruft jetzt negative Krümmungen im AT hervor; es liegt hier jetzt also ein neutraler WS vor.

Der laugenfeste WS ist im Alkohol- wie im Ätherextrakt gegenüber den unbehandelten Hypokotylen nicht vermehrt, was deshalb überrascht, weil er von außen geboten wurde. Damit wird es wahrscheinlich, daß er bei den Vorgängen, die zur Bildung des zweiten, säurefesten WSes führen, verbraucht oder verändert wird. Im Gegensatz zum Ätherextrakt läßt der Alkoholauszug keine bemerkenswerte Zunahme des säurefesten WSes erkennen (vgl. Tabellen 10 und 15). Möglicherweise hängt dies mit dem Auftreten eines WSes in der neutralen Phase zusammen, wo sonst ein HS erscheint. Es hat den Anschein, als ob dieser neutrale HS unter dem Einfluß des HA in einen neutralen WS verwandelt worden wäre, und der Gedanke liegt nahe, daß HA den HS über eine neutrale fördernde Substanz in den säurefesten WS verwandelt.

Die Zunahme des säurefesten WS stimmt mit den Versuchen Dettweilers (1943) an *Coleus* überein. Dagegen fand dieser nur geringe Mengen von HA. Das erklärt sich vermutlich aus der Verschiedenheit

der Objekte. Doch kann bei DETTWEILERS Versuchen auch ein Substanzverlust eingetreten sein, da er bei p_H 7 mit Chloroform ausschüttelte, somit vielleicht nicht aller WS erfaßt wurde.

Zusammenfassung und Schlußbetrachtung.

Die vorliegenden Untersuchungen an Samen, jungen Keimlingen sowie Teilen älterer Keimpflanzen von *Phaseolus vulgaris* haben ergeben, daß in ihnen zwei saure WSe und ein neutraler HS direkt nachweisbar sind. Zur besseren Übersicht fassen wir das Gesamtergebnis nochmals in einer Tabelle zusammen (Tabelle 16).

Tabelle 16. *Übersicht über das Gesamtergebnis (Sommerversuche).* Abgerundete durchschnittliche Winkel im AT.

	Alkoholextrakt						Ätherextrakt			
	roh	Saure Phase	+ Säure	+ Erbsenenzym	+ Lauge	Neutrale Phase	roh	+ Säure	+ Erbsenenzym	+ Lauge
Ruhender Samen .	+2	−14				+2	−18			
Angekeimter Samen	−9	−33	−13		−22	+8	−14	−1	−1	−22
Etiolierte Keimpflanzen	−3	−19		−15		+1				
Etiolierte Hypokotyle . .	−6	−14	−5	−5	−11	−4	−25	−1	−3	−24
Lichthypokotyle .	−7	−20	−15	−13	−17	+2	−17	−4	−3	−13
Etiolierte Kotyledonen . .	−7	−24	−8	−14	−21	+7				
Lichtkotyledonen .	+4	−27	−13	−13	−14	+3	−27	−4	−9	−24
Hypokotyle + HA-Paste	−16	−18	−16	−16	−12	−8	−23	−19	−20	−16

Wie man sieht, ergibt ein *Ätherrohextrakt* im *Avena*-Test stets beträchtliche Winkel. Bei ruhenden, gequollenen und eben gekeimten Samen gelingt die Ätherextraktion erst nach geringer Ansäuerung. Diese ist vermutlich deshalb erforderlich, weil die Samen ein neutrales Milieu darstellen, in welchem die WSe gänzlich dissoziiert vorliegen, so daß sie nicht in den Äther übergehen. Die zweite Möglichkeit, daß die Samen eine Vorstufe enthalten, die durch Säurehydrolyse in einen aktiven WS verwandelt wird, scheidet wohl deshalb aus, weil Alkohol schon ohne Säurezusatz WS extrahiert. Bei älteren Keimlingen ist die Ansäuerung nicht erforderlich, und daher anzunehmen, daß bei ihnen die Wasserstoffionenkonzentration von vornherein höher ist.

Der im Ätherextrakt enthaltene WS ist Heteroauxin. Dies wird dadurch bewiesen, daß nach Behandlung des Rohextraktes mit Salzsäure oder Erbsenenzym im AT nunmehr sehr geringe Winkel erscheinen,

nach Laugenbehandlung aber die volle Wirksamkeit erhalten bleibt. Entsprechend haben Wildman und Bonner (1948) sowie Reinert (1950) in Ätherextrakten von Haferkoleoptilen fast nur HA vorgefunden. Führt man den Hypokotylen aber während einiger Stunden HA in Pastenform zu, so nimmt der HA-Gehalt selbst in den Pflanzen nicht zu, eher ab, und es erscheint zusätzlich ein säure- und EE-fester WS, der etwa ebenso stark auf *Avena* wirkt wie der Rohextrakt. Die Winkelsumme der beiden WS ist daher viel größer als der Durchschnittswinkel des Rohextraktes.

Der *Alkoholextrakt* zeigt kompliziertere Zusammensetzung. Als Rohextrakt erzeugt er im AT meist kleinere negative Winkel (etwa — 3 bis —8°), seltener kleine positive (+2 bis +4°). Die erst abgeschiedene *neutrale Phase* ergibt fast immer kleine positive Winkel (+2 bis +8°), enthält also einen HS. Nach Abtrennung dieser neutralen Phase ergibt Ansäuerung mit Weinsäure *(saure Phase)* deutliche negative Winkel (—14 bis —33°). Nach Kochen mit Salzsäure verkleinern sich die Winkel etwas (—5 bis —16°), ebenso nach Behandlung mit EE (—5 bis —16°). Neben diesem säurefesten ist auch laugenfester WS vorhanden (Winkel: —11 bis —22°). Behandlung mit HA hat wieder ein abweichendes Verhalten zur Folge. Zunächst ergibt jetzt schon der Rohextrakt starke negative Winkel (—16°). Die gleichen Winkel finden sich auch nach Behandlung mit Säure oder EE; nach Laugeeinwirkung sind die Winkel ziemlich klein (—12°) und in der neutralen Phase negativ. Im Alkoholextrakt fällt ferner folgendes auf: Man würde erwarten, daß die Winkel beim Rohextrakt durch einfache Summation der Winkel der sauren und der neutralen Phase zustande kommen. Dies trifft aber nicht zu, die negativen Winkel des Rohextraktes sind viel kleiner, als der Summe entspräche, manchmal treten sogar positive Winkel auf.

Im einzelnen wäre noch festzustellen, daß offenbar die Kotyledonen das meiste HA enthalten, diesen Stoff also speichern. Säurefester WS ist in ihnen in größerer Menge erst dann nachweisbar, wenn sie belichtet werden, wie auch am Licht in den Hypokotylen eine sehr auffallende Zunahme dieses WSes eintritt. Die Lichtabhängigkeit der Bildung des säurefesten WS haben wir kürzlich auch in einer anderen Untersuchung (Wiedow und Guttenberg 1952) festgestellt, ebenso, daß HA keine Förderung durch Licht erfährt, vielmehr eine gewisse Abnahme, was sich auch jetzt in den Alkoholextrakten bemerkbar macht.

Schließlich ergibt sich, daß der säurefeste WS sich vorwiegend in Alkohol löst; nur bei HA-Pastenbehandlung erscheint er auch im Ätherauszug. Das HA dagegen geht besonders leicht in Äther, schlechter in Alkohol über.

Wir wollen nun versuchen, aus den Befunden einige Schlüsse zu ziehen, die sich besonders auf den Zusammenhang der drei nach-

gewiesenen Stoffe beziehen. Besonders fällt die eben erwähnte Tatsache auf, daß der neutrale HS viel zu kleine positive Winkel erzeugt, als daß diese den starken Abfall der negativen Winkel des Rohextraktes gegenüber denen der sauren Phase erklären könnte. Zunächst besteht hier die Möglichkeit, daß der HS, wenn er im Rohextrakt gleichzeitig mit den WS geboten wird, eine stärkere Hemmung bewirkt als allein, d. h., daß er im Gemisch die Wirksamkeit der WSe herabsetzt. Dies halten wir für wenig wahrscheinlich. Eher möchten wir annehmen, daß nach Abtrennung des neutralen HSes durch die darauffolgende Ansäuerung WS neu aus einer sauren, hemmenden Vorstufe (aus einem Antiauxin) entsteht. Dann müßten zweierlei HSe vorhanden sein, ein neutraler und ein saurer. Das würde mit der neuen Untersuchung Hembergs übereinstimmen, der in Kartoffeln gleichfalls zwei solche HSe fand, von denen nur der saure maßgeblich ist, da er allein durch Äthylenchlorhydrin inaktiviert wird, wobei die Ruheperiode der Kartoffel aufgehoben wird. Darüber, welcher der beiden WSe es ist, der zunimmt, geben unsere Versuche keine eindeutige Auskunft, und zwar auch deshalb nicht, weil nicht immer die gleiche Materialmenge verwendet wurde. Diese hatte übrigens überraschend wenig Einfluß, ein Beweis dafür, wie vorsichtig man bei einer quantitativen Auswertung des *Avena*-Testes sein muß.

Es bleibt noch die Beziehung der beiden WSe zueinander zu besprechen. Da Bohnenhypokotyle nach Behandlung mit HA-Paste eine Zunahme des säurefesten WSes erfahren, während das gebotene HA sich in der Pflanze nicht vermehrt, ist zunächst Dettweilers (1943) Versuch an *Coleus* bestätigt, und zwar jetzt auch bei Prüfung mit der EE-Methode. Es steht also fest, daß HA einen neuartigen WS aktiviert, der in seiner Säurefestigkeit mit Kögls Auxin übereinstimmt. Der Gedanke liegt nahe, daß es sich dabei nicht um dieses handelt, sondern daß eine Umwandlung der Indolylessigsäure in ein anderes wachstumförderndes Indolderivat vorliegt, das gegenüber Säure und EE resistent ist. Ein solches ist aber bisher nicht bekannt geworden. So bleibt als weitere Möglichkeit zu erwägen, daß das HA einen sekundären Prozeß auslöst, für den man folgendes annehmen könnte. Das zusätzlich gebotene HA verdrängt den säurefesten WS von seinen Plasmaorten. So befreit wirkt dieser wachstumfördernd, wird dabei aber im Wachstum verbraucht. Das würde es auch erklären, warum normale Pflanzen immer nur verhältnismäßig wenig säurefesten WS besitzen. Es könnte aber auch HA der Faktor sein, der das selbst unwirksame oder wahrscheinlich sogar hemmende Antiauxin in aktiven WS verwandelt. Auch das Antiauxin dürfte an bestimmte Plasmaorte gebunden sein und könnte durch das HA erst befreit und gleichzeitig in aktiven WS verwandelt werden. Diese vorläufig wohl noch sehr gewagte Hypothese soll hier nur deshalb ausgesprochen werden, weil sie vielleicht als Arbeitshypothese verwendbar ist.

Was den neutralen HS betrifft, so könnte er Indolacetaldehyd sein; leider fehlte uns die Möglichkeit zu prüfen, ob sich dieser HS oxydativ in Indolylessigsäure verwandeln läßt. Wir hoffen dies später nachtragen zu können.

Literatur.

Avery jr., G. S., J. Berger and B. Shalucha: Amer. J. Bot. **28**, (1941). — Avery jr., G. S., J. Berger and R. O. White: Amer. J. Bot. **32** (1945). — Avery jr., G. S., H. B. Creighton and B. Shalucha: Amer. J. Bot. **27** (1940). — Boysen-Jensen, P.: Planta (Berl.) **31**, 653 (1940/41). — Dettweiler, Chr.: Planta (Berl.) **33** (1943). — Erxleben, H.: Erg. Physiol. **37** (1935). — Funke, H.: Jb. wiss. Bot. **91**, 54 (1943). — Funke, H., u. H. Söding: Planta (Berl.) **36**, 341 (1948). — Guttenberg, H. v.: Naturwiss. **30** (1942). — Guttenberg, H. v., u. E. Büchsel: Planta (Berl.) **34** (1943/44). — Guttenberg, H. v., u. J. Eifler: Ber. dtsch. bot. Ges. **65** (1952). — Guttenberg, H. v., u. E. Lehle-Joerges: Planta (Berl.) **35**, 281 (1947). — Haagen-Smit, A. J., W. D. Leech and W. R. Bergren: Science Lancaster, Pa.) **93**, 624 (1941). — Hemberg, T.: Physiol. Plant **5**, 115 (1952). — Jahnel, H.: Jb. wiss. Bot. **85**, 329 (1937). — Kaufmann, E.: Planta (Berl.) **33**, 516 (1943). — Larsen, P.: Planta (Berl.) **30**, 160 (1939/40). — Larsen, P.: Dansk bot. Ark. **11** (1944). — Linser, H.: Planta (Berl.) **39**, 377 (1951). — Moewus, F.: Biol. Zbl. **68**, 58 (1949). — Pohl, R.: Planta (Berl.) **25**, 720 (1936); **39**, 105 (1951). — Reinert, J.: Z. Naturforsch. **5b**, 374 (1950). — Roberch, J. R., u. J. B. Thomas: Proc. Kon. Ned. Acad. v. Wetensch. **51**, 87 (1948). — Stewart, W. S.: Bot. Gaz. **1939**, 101. — Tegethoff, B.: Planta (Berl.) **38**, 648 (1951). — Voss, H.: Planta (Berl.) **30**, 252 (1939). — Went, F.: Rec. Trav. bot. néerl. **25** (1928). — Wiedow, H. L., u. H. v. Guttenberg: Planta (Berl.) **41**, 589 (1953). — Wildman, S. G., and J. Bonner: Amer. J. Bot. **35**, 740 (1948).

Dr. Ingeborg Feldmeier und Prof. Dr. H. v. Guttenberg,
Rostock, Botanisches Institut der Universität, Doberaner Str. 143.

Planta, Bd. 42, S. 19—29 (1953).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut Göttingen.

ÜBER DEN EINFLUSS DER TAGESLÄNGE NACH DER PHOTOPERIODISCHEN INDUKTION AUF DIE INFLORESZENZEN VON *KALANCHOË BLOSSFELDIANA**.

Von

RICHARD HARDER.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. März 1953.)

Aus zahlreichen Untersuchungen (z. B. HARDER 1946, LANG 1949) ist gefolgert worden, daß bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* der Zeitpunkt des Sichtbarwerdens der Infloreszenzen, die Zahl der Blüten und auch der Grad der Verlaubung der Brakteen ein quantitativer Maßstab für die Größe des Blühimpulses seien; je schwächer der Blühimpuls ist, desto später werden die Infloreszenzen sichtbar, desto geringer ist die Zahl ihrer Blüten, und desto stärker ist die Verlaubung. Durch Versuche mit lokalisierter Wirkung von Kurz- und Langtag auf verschiedene Blätter der gleichen Pflanze, die in sehr reicher Variation durchgeführt wurden (HARDER, WESTPHAL und BEHRENS 1949, HARDER und GÜMMER 1949) und durch außerordentlich starke Abkürzung der das Blühen auslösenden Belichtung bei gleichzeitiger Ausschaltung von Langtagseinwirkungen (HARDER und GÜMMER 1947) hat sich dann aber ergeben, daß die Verlaubung der Brakteen nicht durch die Verringerung des Blühimpulses zustande kommt, sondern daß dafür die Einwirkung von Langtag auf die Pflanze erforderlich ist, und zwar entweder gleichzeitig mit der Einwirkung des Kurztages oder auch hinterher. Auch an anderen Objekten (vgl. z. B. GALINAT und NAYLOR 1951, und die dort angegebene Literatur) hat man entsprechende Einflüsse mit zunehmendem Anstieg der täglichen Belichtungszeit nach der photoperiodischen Kurztagsinduktion beobachtet. Am weitestgehenden untersucht sind die Verhältnisse aber bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Trotzdem ist auch bei ihr ein sehr einfacher Versuch bisher noch nicht gemacht worden, nämlich die planmäßige Variation der täglichen Langtagsdauer im Anschluß an die photoperiodische Exposition. Während die Kurztagsinduktion in mannigfachster Weise sowohl durch Veränderung der Zahl der Kurztage, durch Variation ihrer Stundenzahl, durch Modifikation der Lichtintensität, durch Wechsel der Anzahl der dem Kurztag ausgesetzten Blätter, durch künstliche Abänderung der Größe der exponierten Blätter und noch

* WILHELM RUHLAND zum 75. Geburtstag.

manches andere mehr verändert worden ist, wobei auch das Wechselspiel zwischen Kurztags- und Langtagsblättern an dem gleichen Individuum nicht vergessen wurde, hat man es bei der Langtagswirkung während der Blütenentwicklung fast ausnahmslos bei der natürlichen Tageslänge des Sommers oder — in elektrischem Licht — bei einer einheitlichen, ziemlich willkürlichen Länge von immer wesentlich mehr als 12 Std belassen.

Über einige Beobachtungen bei variierter Langtagsdauer im Anschluß an die Kurztagsexposition soll nachstehend berichtet werden.

I. Experimenteller Teil.

A. Methodisches.

Die Pflanzen wurden in der üblichen Weise im Versuchsgewächshaus aus Sämlingen herangezogen, durch frühzeitiges Ausbrechen der Seitentriebe unverzweigt gehalten und im Alter von etwa $^1/_2$ Jahr in den Versuch genommen. Während der Wintermonate wurde das Blühen bei ihnen durch 1stündiges nächtliches Störungslicht (HARDER und BODE 1943) unterdrückt; wenn die natürliche Tageslänge auf $12^1/_2$—13 Std angestiegen war, konnte auf das Störlicht verzichtet werden. Im Herbst wurde von der gleichen Tageskürze an dann wieder Störlicht gegeben.

Der Kurztag zur Erzeugung des Blühimpulses wurde auf Grund unserer alten Erfahrungen (z. B. HARDER, WESTPHAL und BEHRENS 1949) auf 9 Std festgelegt. Für den anschließenden Langtag wurden 12, 18 und 24 Std ausgewählt. In früheren Versuchen waren nämlich die besten Blüherfolge im 9—10stündigen Tag erzielt worden; erhielt aber ein Teil der Blätter der Versuchspflanze gleichzeitig 11- oder 12stündige Beleuchtung, so trat schon eine merkliche Verschlechterung im Blühen ein, die bis 17 Std (die höchste untersuchte Dauer) noch stark zunahm. Es konnte daher damit gerechnet werden, daß bei der Einwirkung eines 12-Std-Tages im Anschluß an die Kurztagsexposition schon eine merkbare Störung eintreten müßte, die ihren Höhepunkt im Dauerlicht erreichen würde.

Die 12—24stündige Beleuchtung während der Blütenentwicklung, die sich an die den Blühimpuls gebende Kurztagsbeleuchtung anschließt, wird nachstehend immer „*Nachbelichtung*“ genannt.

Der Versuch wurde im August 1952 mit 81 gleichmäßig entwickelten Pflanzen begonnen. Sie wurden in 3 Gruppen von 27 Stück aufgeteilt. Alle Pflanzen erhielten 9stündigen Kurztag, und zwar je nach Gruppe während 2, 8 und 16 Tagen (2—16 Zyklen). Jede Gruppe wurde wieder in 3 Untergruppen zu 9 Exemplaren unterteilt, die nach Abschluß der Kurztagsbehandlung in Nachbelichtung von 12, 18 und 24 Std kamen. Der Versuch wurde so angeordnet, daß der Abschluß der Kurztagsbehandlung bei allen Pflanzen auf den gleichen Tag (16. 8.) fiel; die mit

2 Kurztagszyklen behandelten 27 Pflanzen bekamen also am 16. und 17. 8. Kurztag, die anderen von einem entsprechend früheren Datum an. Während der Nachbelichtung herrschten also für alle 91 Versuchspflanzen gleiche Lichtintensität, Temperatur, Luftfeuchtigkeit usw. Die Nachlichtbehandlung dauerte bis zum 1. 12.; von da ab kamen die Pflanzen alle wieder in den natürlichen jahreszeitlichen Tag aber mit 1 Std nächtlichen Störlichtes. Die ersten Blüten wurden etwa 2 Wochen nach dem 18. 6. sichtbar, ihre endgültige Auszählung, Ausmessung der Brakteen usw. wurde am 1. 12. 52 vorgenommen; die Photographien (Abb. 2 und 4) wurden dagegen erst am 12. 3. 53 gemacht.

B. Ergebnisse.

1. Sichtbarwerden der Infloreszenzen. In Abb. 1 ist die Abhängigkeit des ersten makroskopischen Sichtbarwerdens der Infloreszenzen bei den 9 Gruppen dargestellt. Bei photoperiodischer Induktion mit nur 2 Zyklen wurden die Infloreszenzen frühestens nach 17,5 Tagen (Mittelwert aus den 9 Pflanzen der Gruppe, s. Tabelle 1) sichtbar, und zwar wenn die Nachbelichtung 12 Std betrug; bei längerer Nachbelichtung erschienen die Blüten erst nach 24,8 bzw. 27,6 Tagen. Nach 8 Kurztagszyklen erschienen die Blütenstände etwas früher, hinsichtlich der Wirkung der Nachbelichtung war das Ergebnis aber im wesentlichen gleich. Bei 16 Kurztagszyklen (mit noch früherem Sichtbarwerden der Infloreszenzen) hingegen war kein Unterschied im Erscheinen der Blütenstandsanlagen in Abhängigkeit von der Dauer der Nachbelichtung vorhanden: Die Infloreszenzen wurden alle im gleichen Zeitpunkt, nämlich nach $13^1/_2$ Tagen sichtbar; dieses unerwartete Ergebnis läßt sich außerordentlich einfach erklären: Wenn die Kurztagsbehandlung 16 Tage dauerte und die Blüten schon nach $13^1/_2$ Tagen erschienen, so hatte die ja erst $2^1/_2$ Tage später beginnende Nachbelichtung natürlich gar keine Möglichkeit, ihren Einfluß auf das Sichtbarwerden der Infloreszenzen auszuüben.

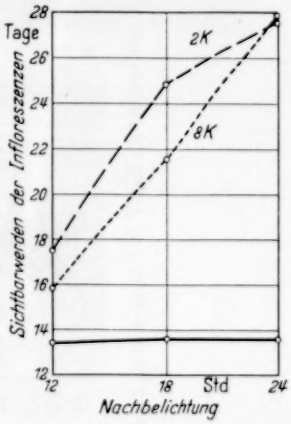


Abb. 1. Sichtbarwerden der Infloreszenzen nach Behandlung mit 2, 8 und 16 Kurztagszyklen (9 Std) in 12-, 18- und 24stündiger Nachbelichtung.

2. Anzahl der Blüten. Bei der Schlußzählung am 1. 12. war wieder ein sehr starker Unterschied je nach der Stundenzahl der Nachbelichtung vorhanden. Je länger die Nachbelichtung war, desto geringer war die Zahl der Blüten (Abb. 2 und 3, Tabelle 1). Dabei war der Sprung in der Blütenzahl zwischen 12 und 18 Std Nachbelichtung nach 2 und 8 Kurztagsinduktionen viel größer als zwischen 18 und 24 Std.

a b

c

Abb. 2 a—c.. Infloreszenzen der Gruppe mit 2 Kurztagen. Nachbelichtung a 12, b 18, c 24 Std. Die wenigen Blüten in b und c sind nicht zu erkennen. Photo 8. 3. 53.

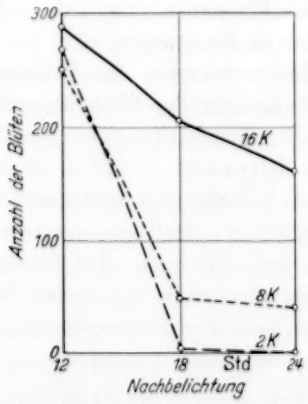


Abb. 3. Blütenzahl am 1. 12. 52 nach 2, 8 und 16 Kurztagszyklen in 12-, 18- und 24stündiger Nachbelichtung.

3. Blütenentfaltung. Die relative Zahl der noch nicht geöffneten Knospen — bezogen auf die Gesamtzahl der Blüten — war am 1. 12.

Tabelle 1. *Blühverhältnisse und vegetative Merkmale der mit verschiedenen Kurztagszyklen und verschiedenen Nachbelichtungen behandelten Pflanzen.*

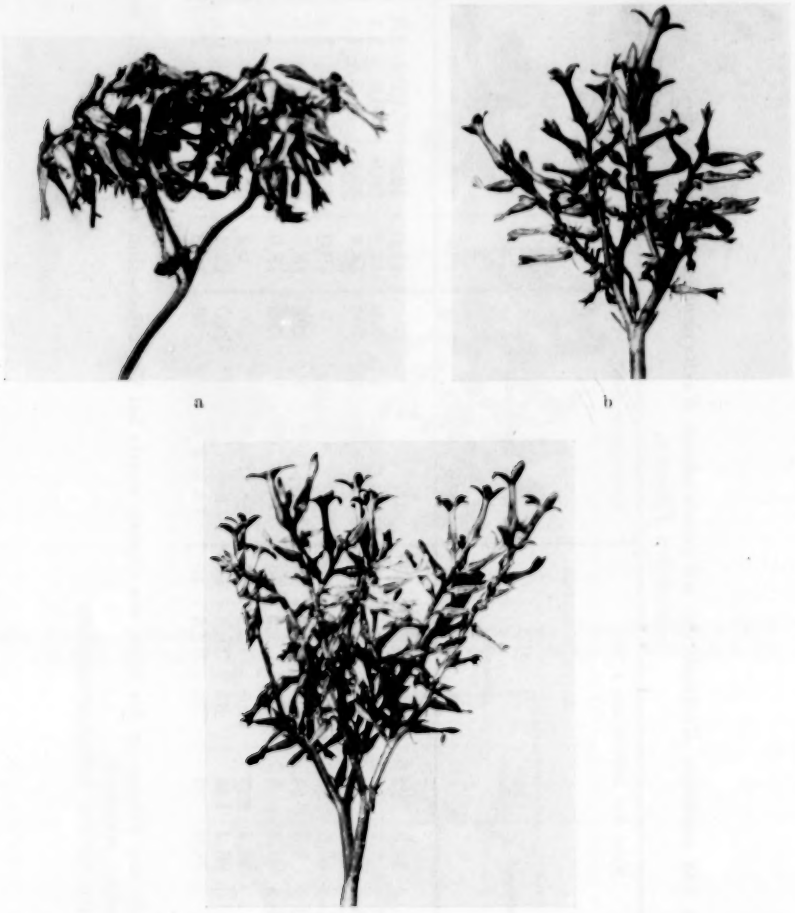
Kurztag Std	Nachbelichtung Std	Sichtbarwerden der Infloreszenzen Tage	Zahl der Blüten am 1. 12. gesamt	Zahl der Blüten am 1. 12. geöffnet	Zahl der Blüten am 1. 12. davon Knospen gesamt	Zahl der Blüten am 1. 12. davon Knospen %	Verlaubung am 1. 12. größte Braktee mm		Länge der Pflanzen am 1. 12. bis 1. Gabel[2] cm	Länge der Pflanzen am 1. 12. bis 1. Blüte[2] cm	Länge der Pflanzen am 1. 12. gesamt[3] cm	Stengeldurchmesser unter der 1. Blüte mm
2	12	17,5 ± 0,8	267 ± 14,3	22,9	244 ± 13,7	83	0[1]	0[1]	11,0	16,0	54,2 ± 1,6	3,6 ± 0,1
2	18	24,8 ± 1,3	2,2 ± 1,1	2,2	0	0	40 ± 1 · 23 ± 1	920	17,1	20,9	60,9 ± 1,1	5,5 ± 0,3
2	24	27,6 ± 1,2	0,6 ± 0,3	0,6	0	0	35 ± 1 · 20 ± 1	700	18,4	20,5	58,0 ± 1,3	4,9 ± 0,2
8	12	15,9 ± 0,6	249 ± 16,5	89,5	160 ± 19,2	60	—[1]	—[1]	12,0	17,2	55,5 ± 1,4	3,3 ± 0,2
8	18	20,7 ± 1,0	28,3 ± 3,6	14,2	14,1 ± 2,2	50	18 ± 1 · 11 ± 1	198	18,5	19,4	61,1 ± 1,5	4,7 ± 0,2
8	24	27,8 ± 1,1	18,7 ± 2,9	8,7	10,0 ± 1,9	53	21 ± 1 · 12 ± 1	360	18,0	19,3	60,8 ± 1,7	5,1 ± 0,2
16	12	13,4 ± 0,4	289 ± 36,4	257	42,0 ± 12,2	14	—[1]	—[1]	9,8	22,9	54,2 ± 1,6	3,4 ± 0,2
16	18	13,6 ± 0,4	207 ± 26,2	144	63 ± 18,8	40	< 5 ± 1 · 2 ± 0	<10	13,3	23,6	57,8 ± 0,9	4,0 ± 0,2
16	24	13,6 ± 0,4	162 ± 18,0	79	73 ± 12,6	45	<10 ± 1 · 5 ± 1	<50	18,0	21,6	62,5 ± 2,2	5,1 ± 0,2

[1] Keine Verlaubung.

[2] An einer bestimmten Stelle der Pflanze in der Nähe des Gipfels wurde bei Versuchsbeginn ein Aluminiumring angebracht, von dem aus die Messung spitzenwärts stattfand.

[3] Gesamthöhe vom Erdboden bis zur Infloreszenzspitze.

im großen und ganzen um so größer, je länger die Nachbelichtung war. Besonders deutlich war das nach 16 Kurztagen (Tabelle 1: 14, 40 und 45%), während bei den anderen beiden Kurztagsgruppen die Verhältnisse infolge der sehr geringen absoluten Blütenzahl sehr unsicher waren.



a b c

Abb. 4 a—c. Infloreszenzen der Gruppe mit 16 Kurztagen. Nachbelichtung a 12, b 18, c 24 Std. Etwas vergrößert. Photo 8. 3. 53.

Ganz besonders widerspruchsvoll waren die Verhältnisse bei der schwächsten Induktion, also bei 2 Kurztagszyklen, wo im 18- und 24stündigen Tag nur 2,2 bzw. 0,6 Blüten je Pflanze auftraten, die alle schon aufgeblüht waren; hier waren also überhaupt keine Knospen mehr vorhanden, während gerade bei dieser schwachen Induktion noch eine relativ große Zahl von Knospen zu erwarten war. Aber das ist natürlich Zufall.

Im großen ganzen kann man trotzdem sagen, daß die Entfaltung der Blüten um so stärker verzögert war, je länger die Nachbelichtungszeit war. Das war auch am 12. 3. 53 noch sehr deutlich: in der Gruppe mit 16 Kurztagszyklen waren die Blüten mit 12stündiger Nachbelichtung völlig abgeblüht (Abb. 4a), die anderen hingegen hatten noch zahlreiche offene Blüten (Abb. 4b und c).

4. Verlaubung. Zur Ermittlung des Verlaubungsgrades wurde an jeder Infloreszenz die größte Braktee dem Augenschein nach herausgesucht und ihre Länge und größte Breite in Millimetern gemessen. Die beiden Werte können nach Multiplikation miteinander als relatives Maß

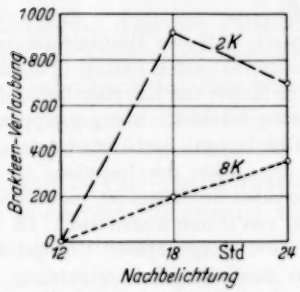


Abb. 5. Verlaubung. Größte Brakteen am 1. 12. 52 nach 2 und 8 Kurztagszyklen in 12-, 18- und 24stündiger Nachbelichtung.

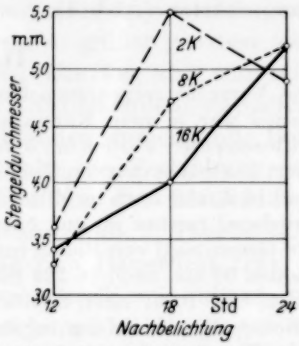


Abb. 6. Durchmesser des Infloreszenzstengels am 1. 12. 52 nach 2, 8 und 16 Kurztagszyklen und 12-, 18- und 24stündiger Nachbelichtung.

für die Größe der Verlaubung benutzt werden. Bei 12stündiger Nachbelichtung war überhaupt keine Verlaubung vorhanden, im 18-Std-Tag trat sie deutlich auf und ebenfalls in der 24stündigen Nachbelichtung (Abb. 2). Die Unterschiede zwischen 18 und 24 Std waren aber nur gering und ließen sich statistisch nicht sichern; teilweise war die Verlaubung dabei in der Dauerbelichtung sogar etwas geringer als im 18-Std-Tag (Abb. 5). Nach 16 Kurztagen trat nirgends Verlaubung auf (Abb. 4).

5. Länge der Pflanze, Dicke des Stengels. Auch in der Länge der Pflanzen traten Unterschiede auf. Die Pflanzen hatten bei Versuchsbeginn alle ungefähr gleiche Größe, am Versuchsende waren sie dagegen gruppenweise verschieden lang. Allerdings waren die Streuungen hier sehr groß. Sehr eindeutig war aber stets, daß die Pflanzen in 12stündiger Nachbelichtung an fast sämtlichen Meßpunkten (zum Teil in Tabelle 1 wiedergegeben) niedriger waren als die anderen. Die Gesamtlänge aller Pflanzen in der 12stündigen Nachbelichtung war im Mittel 53,4 cm, die der im 18- und 24stündigen Nachlangtag 59,9 bzw. 60,1 cm[1]. Auch die

[1] In diesen Zahlen ist auch ein im übrigen hier nicht miterwähnter Ergänzungsversuch enthalten.

Zahl der Knoten (d. h. die Zahl der nach Versuchsbeginn neu gebildeten Blattpaare) war bei 12stündiger Nachbelichtung ein wenig kleiner als bei den anderen beiden Nachbelichtungszeiten. Recht auffällig war schließlich eine Verschiedenheit in der Dicke des Stengels unterhalb der ersten Blüte (Abb. 6); er war bei 12stündiger Nachbelichtung bedeutend dünner als bei den längeren Nachbelichtungszeiten. Dieser Unterschied wurde bis Mitte März noch sehr viel ausgeprägter; die Pflanzen mit 12stündiger Nachbelichtung waren jetzt meistens völlig abgeblüht und die Stengel begannen zu vertrocknen, während die übrigen noch am Blühen oder in rein vegetativer Entwicklung waren und sehr dicke Stengel bekommen hatten (Abb. 4).

II. Besprechung.

Die Versuche zeigen zunächst übereinstimmend, daß der Blühimpuls um so wirksamer war, je mehr Kurztagszyklen die Pflanzen erhalten hatten (Tabelle 1): Die Infloreszenzen wurden um so früher sichtbar, je länger die Kurztagsbehandlung gedauert hatte (bei den sämtlichen 27 Pflanzen aller Nachbelichtungsgruppen mit 2, 8 und 16 Zyklen nach im Mittel 23,3, 21,5 und 13,5 Tagen); sie blühten auch dementsprechend rascher ab und hatten auch eine der Größe des Impulses entsprechende Gesamtzahl von Blüten (nach 2 Kurztagszyklen im Mittel 90, nach 8 Kurztagszyklen 99 und nach 16 224 Blüten je Pflanze; von ihnen waren am 1. 12. nach 2 Zyklen erst 10%, nach 8 38% und nach 16 70% aufgeblüht). Entsprechend war die als Ausdruck der vegetativen Tendenz anzusehende Verlaubung nach wenigen Kurztagszyklen bedeutend größer als nach stärkerem Impuls (Tabelle 1); auch die Neubildung der Blätter seit Versuchsbeginn war entsprechend dem stärkeren Blühimpuls bei einer größeren Anzahl Kurztagszyklen ein wenig geringer als bei geringerer Induktion (Mittelwert nach 16 Zyklen 14,9, nach 8 15,7 und nach 2 16,2).

Alles das war nach unseren früheren Erfahrungen an *Kalanchoë Blossfeldiana* auch nicht anders zu erwarten.

Neu ist an den vorstehenden Untersuchungen der Einfluß der Tageslänge während der Blütenentwicklung. Alle Merkmale, die man zur Kennzeichnung des Blühzustandes benutzen kann, waren um so schwächer ausgeprägt, in je längerem Tage sich die Blütenstände entwickelten. Zwar ließen sich durchaus nicht alle Zahlen statistisch sichern, besonders nicht die Unterschiede zwischen der 18- und 24stündigen Nachbelichtung; die Differenz zwischen den Werten der 12stündigen und den beiden längeren Nachbelichtungszeiten, vor allem zwischen der 12- und der 24stündigen, lag aber fast ausnahmslos außerhalb des 3fachen mittleren Fehlers.

Daß nach 16 Kurztagszyklen im Sichtbarwerden der Infloreszenzen keine Unterschiede bei den verschiedenen Nachbelichtungszeiten auftreten konnten, wurde oben bereits dargelegt. Trotzdem war später (am 1. 12.) die Blüten*zahl* deutlich verschieden. Dabei überschneiden sich unter Anrechnung des einfachen mittleren Fehlers diese 3 Werte nicht ($282{,}5 \pm 36{,}4$; $207{,}3 \pm 26{,}2$; $161{,}6 \pm 18{,}0$), bei Berücksichtigung

des 3fachen Fehlers sind sie allerdings nicht gesichert. Die erst nach dem Sichtbarwerden der Infloreszenzen einsetzende Tageslängenverschiedenheit wirkte sich also noch beim Heranwachsen der Infloreszenzen und bei der Ausbildung der Blüten aus. Auch im Tempo des Aufblühens (Zahl der Knospen und aufgeblühten Blüten am 1. 12.) war dieser Unterschied zu erkennen, allerdings im wesentlichen nur zwischen den Pflanzen in der 12stündigen Nachbelichtung einerseits und den beiden längeren Nachbelichtungen andererseits.

Die Entwicklungsgeschwindigkeit, also die vegetative Tendenz, war also um so stärker, je länger der Tag war, in dem die Pflanzen sich nach der Kurztagsinduktion entwickelten. Danach wäre zu erwarten gewesen, daß auch die Verlaubung der Brakteen um so größer gewesen wäre, in je längerem Tag die Pflanzen aufwuchsen. Das war aber nur teilweise der Fall. Gegenüber dem Verhalten im 12-Std-Nachlicht war allerdings die Verlaubung bei den längeren Nachlichtzeiten immer groß: Bei allen Versuchen mit 12stündigem Nachlicht fehlte die Verlaubung ja vollständig (Abb. 5), während sie bei Entwicklung der Blütenstände im 18- und 24-Std-Tag durchaus vorhanden war (Abb. 2, Tabelle 1). Aber die erwartete Steigerung vom 18-Std-Tag zum Dauerlicht trat durchaus nicht immer ein, und wo sie im erwarteten Sinne auftrat, war sie statistisch nicht gesichert. Die Hemmwirkung des Langtages scheint demnach schon bei 18 Std ihr Optimum ganz oder fast ganz erreicht zu haben, so daß ein statistisch zu sichernder Unterschied zwischen der Wirkung des 18- und 24stündigen Tages für einen Teil der Blüherscheinungen nicht mehr möglich ist.

Die gegenüber dem 18- und 24stündigen Tag so außerordentlich geringe Wirkung der 12stündigen Nachbelichtung kann 2 Ursachen haben; sie kann entweder nur auf einem sehr schwachen Ausgeprägtsein der Langtagshemmung beruhen oder diese kann noch durch eine *fördernde* Wirkung unterstützt oder übertönt sein. An eine Förderung ist aus folgendem Grunde zu denken: Wenn man *Kalanchoë Bloßfeldiana* im 12stündigen Tag kultiviert, bleiben die Pflanzen nicht vegetativ, sondern sie kommen zum Blühen, wenn auch verzögert (Harder und v. Witsch 1942). Wenn also bei den oben zitierten Versuchen von Harder, Westphal und Behrens (1949) durch die Einwirkung von 11- und 12stündigem Tag gegenüber 9- und 10stündigem eine Hemmung im Blühen auftrat, so darf daraus nicht geschlossen werden, daß 12stündiger Tag bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* die Blütenbildung unmöglich mache. 12-Std-Tag ist für *Kalanchoë Bloßfeldiana* also kein das Blühen unterdrückender Langtag, sondern lediglich abgeschwächter, d. h. über das Optimum hinaus verlängerter Kurztag. Die Nachbelichtung mit dem 12-Std-Tag muß daher notwendigerweise zu viel günstigeren Blühergebnissen führen, als wenn die Nachbelichtung 18 oder 24 Std beträgt. Nur

so ist es überhaupt zu verstehen, daß die Pflanzen bei nur 2 Kurztagszyklen normal und reichlich blühten.

Die an sich gegenüber günstigerer Tageskürze vorhandene Hemmung durch den 12-Std-Tag kommt in unseren jetzigen Versuchen mit zwei Zyklen also überhaupt nicht faßbar zum Ausdruck, weil die Vergleichsmöglichkeit mit dem Verhalten im 9- bzw. 10stündigen Tag fehlt. Sie wird aber deutlich gegenüber den Versuchen mit 8 und 16 Kurztagszyklen und ebenfalls anschließender 12stündiger Nachbelichtung. Bei ihnen kamen die Blüten rascher zur Entwicklung und blühten schneller auf (Tabelle 1); gegenüber 8 bzw. 16 9stündigen Kurztagen wirkte die entsprechende Anzahl 12stündiger Kurztage also verzögernd — trotzdem wirkte der 12-Std-Tag aber doch als Kurztag und machte reichliche und unverlaubte Blütenbildung möglich.

Der starke Gegensatz, der fast überall zwischen den mit 12 Std Nachbelichtung einerseits und 18 bzw. 24 Std andererseits behandelten Pflanzen in Erscheinung trat, beruht also nicht *lediglich* auf einer nur sehr schwach ausgeprägten *Hemmung* durch den 12-Std-Tag. Die negative Beeinflussung der Blühvorgänge nimmt von 12 gegen 18 Std Nachbelichtung stark zu und scheint sich dann bis zum Dauerlicht kaum weiter zu steigern. Über quantitative Einzelheiten können aber erst weitere Versuche mit Zwischenwerten der Nachbelichtung Aufschluß geben.

Der Einfluß der photoperiodischen Verhältnisse nach der blütenauslösenden Kurztagsreizung muß natürlich beachtet, darf aber andererseits auch nicht überschätzt werden. Denn in früheren Versuchen hat sich bei geeigneter Versuchsanstellung (HARDER, WESTPHAL und BEHRENS 1949) gezeigt, daß bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* die Wirkung von *gleichzeitig* neben dem Kurztag gegebenem Langtag wesentlich stärker ist, als wenn der Langtag erst hinterher geboten wird. Der Einfluß kann natürlich überhaupt vernachlässigt werden, wenn es sich um Vergleichsversuche handelt, bei denen Versuchspflanzen mit verschieden starker Blühinduktion später alle, wie es fast immer der Fall ist, unter gleichen Langtagsbedingungen weiterkultiviert werden.

Zusammenfassung.

Den Pflanzen wurde ein Blühimpuls durch verschieden lange Behandlung mit 9stündigem Kurztag (während 2, 8 und 16 Tagen) gegeben und die Entwicklung der Infloreszenzen im anschließenden 12-, 18- und 24stündigen Tag beobachtet. Sie war je nach der Tageslänge sehr verschieden. Die Belichtungsdauer während der Entwicklung der Blüten übt also einen starken Einfluß auf das Blühergebnis aus. Zwischen 18- und 24stündigem Langtag war aber kein statistisch zu sichernder Einfluß feststellbar; beide wirkten gleich stark verzögernd

gegenüber 12stündigem Tag, wobei die für das Blühen sehr viel günstigere Wirkung des 12-Std-Tages aber daher kommt, daß er für *Kalanchoë Bloßfeldiana* noch blühfördernde Kurztagswirkung hat.

Literatur.

GALINAT, C., and W. NAYLOR: Relation of photoperiod to inflorescence proliferation in *Zea Mays*. Amer. J. Bot. **38**, 38 (1951). — HARDER, R.: Über photoperiodisch bedingte Organ- und Gestaltbildung bei den Pflanzen. Naturwiss. **33**, 41 (1946). — HARDER, R., u. O. BODE: Über die Wirkung von Zwischenbelichtungen während der Dunkelperiode auf das Blühen, die Verlaubung und die Blattsukkulenz bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **33**, 469 (1943). — HARDER, R., u. GERTRUD GÜMMER: Infloreszenzverlaubung und Größe des Blühimpulses bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Biol. Zbl. **68**, 435 (1949). — HARDER, R., MARIA WESTPHAL u. GERTRUD BEHRENS: Hemmung der Infloreszenzbildung durch Langtag bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **36**, 424 (1949). — HARDER, R., u. H. v. WITSCH: Weitere Untersuchungen über die Veränderungen der photoperiodischen Reaktion von *Kalanchoë Bloßfeldiana* mit zunehmendem Alter der Pflanzen. Planta (Berl.) **32**, 547 (1942). — LANG, A.: Entwicklungsphysiologie. Fortschr. Bot. **12**, 384 (1949).

Prof. Dr. R. HARDER,
Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Göttingen.

Planta, Bd. 42, S. 30—41 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

ÜBER OENOTHERA HYBRIDA MUT. HELIX *.

Von

O. RENNER.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. April 1953.)

In einer Familie, deren Herkunft gleich darzustellen sein wird, trat im Sommer 1940 unter etwa 100 Pflanzen ein Dutzend Individuen von sehr auffallender Tracht auf: sie hatten zur Zeit der Vollentwicklung einen sehr dicken, meist ganz unverzweigten Stengel mit einem kurzen Schopf gedrängter Blüten, und die mittleren Stengelblätter waren schneckenförmig nach unten eingerollt und dazu um den stark verbreiterten Mittelnerv teilweise scharf nach unten gefaltet (Abb. 1). Die unteren Stengelblätter waren ziemlich normal, ebenso die Brakteen. Bei Selbstbestäubung erwies sich die *helix* genannte Form als konstant.

Fürs nächste war die Frage zu stellen, ob eine Mutation oder die Manifestation eines rezessiven, bis dahin nicht homozygotisch angetroffenen Gens vorlag. Die abgeleitete Bastardform besitzt einen *velans*-Komplex aus *Oe. Lamarckiana* und eine genomatische Kombination, die im wesentlichen *flectens* von *Oe. atrovirens* darstellt, aber statt der Chromosomen 1 *Fl* 4 und 3 *M* 2 von *flectens* die Elemente 1 *r* 2 und 3 *P* 4 von *velans* enthält. In seiner phänischen Wirkung ist der Mischkomplex, der vor allem keine nickenden Stengelgipfel überträgt, so *velans*-ähnlich, daß er der Kürze wegen als *Z-velans* bezeichnet worden ist, die *velans*-Verbindung entsprechend als *Z-amphivelutina* (vgl. RENNER 1943, S. 417, 426; Fig. 34—36). Diese *Z-amphivelutina* tritt in großer Zahl in der F_2 der *Oe. (Lamarckiana* × *atrovirens) velutiflexa* auf, und in der F_3-Nachkommenschaft einer großblütigen, normalkronigen F_2-*Z-amphivelutina*, die zudem von *velans* die Breitblattfaktoren *Lor*^{1} *Lor*^{2} in $11 \cdot 12 + 13 \cdot 14$ homozygotisch besaß, also nur noch 3 Chromosomen von *flectens* enthielt, erschien die neue Form in 13 Individuen, extrem cruciat mit 2 etwas verschiedenen Blütengrößen, unter im ganzen 104 Pflanzen (RENNER 1934, S. 472, Nr. 2598).

Bei Kreuzung dieser *Z-amphivelutina helix* mit *Oe. atrovirens* als Vater entstand *velans · flectens*, blaßgrün wie primäre *velutiflexa* immer ist, durchaus extrem cruciat, in der Normalform, ohne Andeutung der *helix*-Charaktere; *Z-velans · flectens* lebt nicht. Der *helix*-Charakter ist

* WILHELM RUHLAND zum 75. Geburtstag gewidmet.

also nicht kryptomer in *flectens* enthalten, sondern er muß in der betreffenden *Z-amphivelutina* durch Mutation entstanden und in der Nachkommenschaft homozygot verwirklicht worden sein.

Im Lauf von 12 Jahren ist die *Z-amphivelutina helix* in 7 Generationen (12 Familien) und in mehreren hundert Individuen aufgezogen worden. Die Sämlinge sehen meistens ganz normal aus, aber viel häufiger als bei anderen Oenotheren werden sie Krüppel, indem der Vegetationspunkt nach Bildung weniger Blätter oder eines einzigen

Abb. 1.

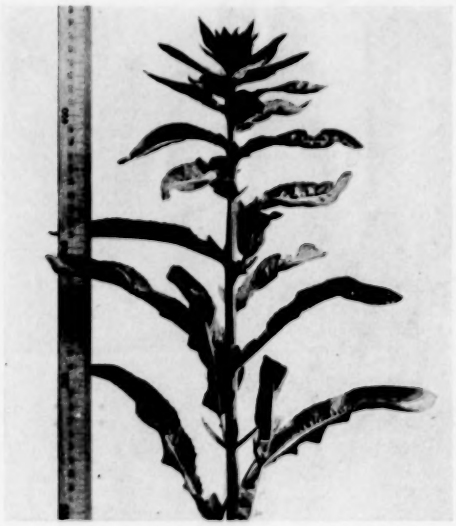


Abb. 2.

Abb. 1. *Oenothera Z-amphivelutina helix* cruciat, großblütig, 1. Generation, mit ungewöhnlich gut entwickelter Infloreszenz. 20. 8. 40.

Abb. 2. *Z-amphivelutina* normal, nicht *helix*. 19. 7. 43.

Blattes, das Becherform haben kann, zugrunde geht. Die Blätter solcher „blinden" Sämlinge werden im Laufe der Monate ansehnlich groß und dick, und das Hypokotyl erstarkt mit der Hauptwurzel zu einer dicken kleinen Rübe, die nicht imstande ist eine Knospe zu regenerieren. Durch Aufpfropfen eines normalen Gipfels kann die Pfahlwurzel eines blinden Sämlings zum Bestandteil einer gesunden Pflanze gemacht werden; so entwickelten sich 2 *Hookeri*-Sämlinge auf Rübenwurzeln der *Z-amphivelutina helix* zu großen reich blühenden Pflanzen.

Helix-Individuen mit gesundem Vegetationspunkt sind von normalen (Abb. 2) noch als Rosetten nicht zu unterscheiden. Erst beim Schossen differenzieren sich die beiden Formen. Die *helix* streckt den Stengel rascher, unter vorübergehendem Erblassen der oberen Blätter bzw.

Brakteen, und die mittleren Stengelblätter, etwa über dem 12. Blatt der Pflanze, fangen bald an sich einzurollen und zu falten (Abb. 3). Während die normale *Z-amphivelutina* die gewöhnliche Verzweigung aus den Achseln einer ganzen Anzahl von Rosetten- und Stengelblättern zeigt und dadurch buschig wird, wächst bei der *helix* selten ein einziger Seitenast aus, der nach kurzem Schrägwuchs parallel zum Hauptstengel

Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 3. *Z-amphivelutina helix* cruciat. 19. 7. 43.

Abb. 4. *Z-amphivelutina helix* cruciat. Nicht gerade häufige, aber typische Art der Verzweigung. August 1943.

aufsteigt (Abb. 4); noch seltener findet sich ein kurzer Zweig oder noch ein zweiter in der Blütenregion, wie Abb. 1 zeigt. Die oberen Stengelblätter werden zu Brakteen, d. h. sie bilden in der Achsel eine Blüte, und nach kurzer Zeit stellt der Gipfel sein Wachstum ein, so daß er meistens weniger als ein Dutzend dicht gedrängter Blüten trägt. Der einsame Seitenast pflegt kleine sterile Brakteen und einen kurzen Blütenschopf zu tragen (Abb. 4). Nicht selten setzt die Blüten(und Frucht)bildung, nachdem sie begonnen hat, für kürzere oder längere Strecken wieder aus, was besonders deutlich an dem Seitensproß in der Abb. 4 zu erkennen ist. Die Blüten werden meist erstaunlich gut ausgebildet, wenn auch solche mit 3gliedrigen Blattkreisen und noch weiter verkümmerte, sogar sehr kleine ohne Fruchtknoten, nicht selten vor-

kommen. Die wenigen Früchte sind oft durchaus normal, doch sind sie, wenigstens nach Selbstbetäubung im Papierbeutel, im untersten Drittel nicht selten dünn und leer. Die 4 Zähne des Krönchens am Fruchtscheitel sind länger als bei irgendeiner anderen beobachteten Form.

Die Hauptstengel wachsen lange in die Dicke und werden unförmlich plump, was dem ganzen Beet ein einzigartiges Aussehen gibt (Abb. 5).

Abb. 5. *Z-amphivelutina helix* im Fruchtzustand. August 1952.

Bei genauem Zusehen findet man in der Blattachsel sehr selten ein farbloses, stift- oder fadenförmiges Gebilde von 1—2 mm Länge, das einen auf ein Blattrudiment reduzierten Seitensproß darstellt. Bei *Lamarckiana helix* (vgl. unten) werden diese Rudimente größer.

Z-amphivelutina helix cruciat großblütig hat sich in 7 Generationen (12 Familien in 12 Jahren) ganz konstant erwiesen. Die schon erwähnte *velutiflexa* cruciat aus *Z-amphivelutina helix* × *atrovirens* gab bei Selbstbestäubung unter anderem *Z-amphivelutina helix* cruciat in 2 Blütengrößen, und eine Linie mit etwas kleineren Blüten als die ursprünglich gehaltene Form wurde in 6 Generationen (7 Familien) ebenfalls konstant befunden. — Wie die Kreuzungen zeigen, ist *velans* in den Embryosäcken beträchtlich häufiger als *Z-velans*, im Pollen sind beide Komplexe gleich vertreten. Die zahlreichen tauben Samen nach Selbstbestäubung sind also zur Hauptsache *velans*-Homozygoten.

Z-amphivelutina + *hel*[1] normalkronig großblütig × *Z-amphivelutina hel* cruciat gab lauter + *hel*, teils normalkronig, teils cruciat. Eine cruciate Pflanze brachte bei Selbstbestäubung 37 + *hel* und 7 *helix*. Eine normalkronige Pflanze selbstbestäubt lieferte 74 + *hel* und 7 *hel*, teils cruciat, teils normalkronig; eine zweite normalkronige + *hel* brachte 9 + *hel* und 3 *helix*. Daran, daß *helix* monogen rezessiv ist, kann nicht gezweifelt werden. Die normalkronige *Z-amphivelutina helix* glich der cruciaten, von der Gestalt der Krone abgesehen, durchaus und blieb in 4 Nachkommenschaften konstant.

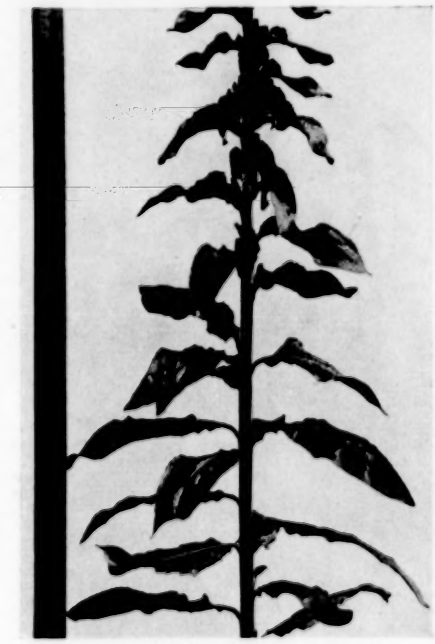


Abb. 6. *Oe. Lamarckiana helix*. 17. 8. 43, aus 43/122.

Oe. Lamarckiana (Sippe aus der Bretagne) × *Z-amphivelutina helix* cruciat lieferte unter anderem *gaudens* · *velans* = *Lamarckiana* ohne *helix*-Defekte. Bei Selbstbestäubung entstanden 66 + *hel* und 4 *helix*. Von einer 2. Generation der *Lamarckiana helix* wurden noch einige Pflanzen blühbar, in der 3. traten nur blinde Krüppel auf. Die *Lamarckiana helix* war zuerst als *subhelix* protokolliert, weil die *helix*-Charaktere abgeschwächt vorhanden sind: die Blätter sind wohl gekrümmt, gedreht, gebuckelt, aber viel weniger deformiert als bei *Z-amphivelutina helix* (Abb. 6), der Stengel ist unverzweigt oder hat 1—2 Zweige, die Infloreszenzen sind unterbrochen, ihre Gipfel bald gehemmt, in den Achseln der unteren Blätter entwickeln sich oft kleine Sprößchen mit einem bis über 1 cm langen, oft becherförmigen Blatt (Abb. 6, unten rechts), oder mit einem fadenförmigen Blatt, wie bei *Z-amphivelutina helix*, oder mit wenigen sehr kleinen Blättchen und einem Faden als Abschluß.

Oe. Hookeri Standard × *Z-amphivelutina helix* cruciat großblütig gibt normalkronige *hookerivelutina* und cruciate *hookeri-Z-velutina*, beide + *hel*. Aus selbstbestäubter *hookerivelutina* entstanden unter 100 Pflanzen, die

[1] Die Symbolisierung + *hel* statt *Hel* gegenüber der fraglosen Mutante *hel* ist hier anwendbar. Für die Darstellung der Genunterschiede zwischen den spontanen Komplexen halte ich die alten Symbole noch immer für zweckmäßiger. Was ist in *Oe. biennis* „normal", *r, pil, Sp* in *albicans*, oder *R, Pil, sp* in *rubens*?

wie immer bei *hookerivelutina* F_2 schwer zu definieren waren, 8 *helix*. Eine solche *helix* brachte eine Nachkommenschaft von 60 *helix*, darunter viele blinde Krüppel.

Oe. Hookeri Standard × *Lamarckiana helix* gibt *hookerilaeta* und *hookerivelutina*, beide als $+^{hel}$. Unter 68 Nachkommen von selbstbestäubter *hookerilaeta* war eine *laeta helix*, unter 55 Nachkommen der *hookerivelutina* waren 2 *helix*; *Hookeri* und *hookerivelutina* sind hier wieder schwer zu unterscheiden. Aus *hookerilaeta* geht bei Selbstbestäubung *Hookeri* hervor; unsere *laeta helix* brachte *Hookeri helix*, sehr dickstengelig, mit breiten, dicken, verkrümmten Blättern, wenigen Blüten. Diese *Hookeri helix* erhielt sich über 3 Generationen in wenigen blühenden Pflanzen und vielen Krüppeln, in der 4. Generation entstanden nur noch Krüppel, die keine Stengel bildeten. Von *hookerivelutina helix* wurde noch eine 2. Generation aufgezogen, in 13 *hookeri*-ähnlichen Pflanzen mit mächtig starken Stengeln, etwas besser verzweigt als *helix* sonst.

Eine aus der homozygotischen Mutante *blandina* (= *levans* · *levans*) der *Oe. Lamarckiana* abgeleitete Form, cruciat, mit dem Stumpfblattfaktor *sp* (aus *rubens* von *Oe. biennis*) im 5.6-Chromosom, gibt mit *Z-amphivelutina helix* in beiden Richtungen gekreuzt *veloblandina* und *Z-veloblandina*, alle als $+^{hel}$. In einer F_2 von *veloblandina* waren unter 87 Pflanzen etwa 10 *helix*, am wenigsten typisch von allen beobachteten *helix*-Kombinationen. meist mit sehr dicken Stengeln, teilweise mit mehreren fast normal aussehenden Seitensprossen; die Blätter erinnern mehr an die gekrümmten und gehöhlten Blätter der *Oe. Lamarckiana* tris. *dependens* (vgl. Renner 1940, S. 258, Fig. 1).

Oe. biennis × *Z-amphivelutina helix* cruciat bringt *albivelutina* normalkronig und *albi-Z-velutina* cruciat. Unter 31 F_2-Nachkommen der *albivelutina* waren 2 *helix*.

Bei der Mehrzahl der in *hel* heterozygotischen Verbindungen wird die *helix* in so geringer Häufigkeit abgespalten, daß es sich nur um crossing-over handeln kann. Bei *Oe. Lamarckiana* waren es unter 70 Pflanzen 4 *helix*, also 5,7%; bei *hookerivelutina* unter 100 + 55 Pflanzen 8 + 2 = 10 *helix*, also 6,4%; bei *albivelutina* unter 31 Pflanzen 2 *helix*, also 6,5%. Nicht so eindeutig ist das Verhalten der *veloblandina* mit 12% *helix*, nämlich 10 auf 81 Pflanzen, und erst recht das der *Z-amphivelutina*: in 4 Familien wurden unter 44 + 81 + 12 + 75 = 212 Individuen 7 + 7 + 3 + 16 = 33 *helix* gezählt, das sind 15,6%; beim 1. Auftreten der Mutante kamen 13 *helix* auf 104 Pflanzen, das sind 12,5%. Hier könnte man an freie Kombination mit beträchtlichem Rezessivenausfall denken. Aber der Vergleich mit *hookerivelutina* macht das doch unwahrscheinlich, wenn wir die Chromosomenbindungen in der Meiose betrachten und nach der Lokalisation des Gens *hel* fragen.

Die Verbindung *hookerivelutina* hat einen Viererring und 5 freie Paare. Der Viererring enthält von *velans* die Letalelemente in den Chromosomen 5.8 + 7.6, dieses Paar kann also nicht homozygotisch verwirklicht werden, im Gegensatz zu allen anderen Chromosomen, und der niedrige Prozentsatz der auftretenden *helix* weist darauf hin, daß crossing-over eben innerhalb des Viererringes vorliegt. In einem der Enden von 5—8 wird das Gen *hel* also wohl seinen Platz haben.

Die *Z-amphivelutina* hat, wenn sie in *Lor* homozygotisch ist, 4 freie Paare und einen Sechserring. Der Ring enthält von *velans* die Chromosomen 5.8, 7.6, 9.10. Wenn *hel* zwischen den Enden 5 und 8 zu suchen ist, kann es also auch in der *Z-amphivelutina* nur auf dem Weg des crossing-over ausgetauscht werden, das hier einen ungewöhnlich hohen Wert erreicht. Ob die Mutation ursprünglich in *velans* oder in *fl-flectens* aufgetreten ist, läßt sich nicht entscheiden.

Die Verbindung *Oe. veloblandina* hat in der Meiose 2 Paare, 1.2 und 3.4, und einen Zehnerring; *Oe. Lamarckiana* hat ein Paar, 1.2, und einen Zwölferring; der Bastard *albivelutina* schließt alle 14 Chromosomen zu einem Ring zusammen. Hier überall verlangt der Austausch von *hel* ein crossing-over.

Die Verursachung der helix-Charaktere.

Die Entwicklungsweise der *helix*-Formen legt die Vermutung nahe, daß in der Mutante das Wuchsstoffsystem gestört ist. Pfropfung von *Z-amphivelutina helix* auf verschiedene normale Oenotheren — *Z-amphivelutina, biennis, Hookeri* — und reziprok haben bis jetzt keine Beeinflussung des Reises durch die Unterlage erkennen lassen: *helix* bleibt auf normaler Unterlage *helix*, und normales Reis auf *helix*-Unterlage bleibt normal. Die Abb. 7 zeigt 2 *helix*-Rosetten, die im Sommer 1952 auf *biennis*-Stengel gepfropft worden sind, im April 1953; sie haben noch normale Blätter, aber nach anderen Erfahrungen dürften die Sprosse, wenn sie zu schossen vermögen, *helix* werden. Die Versuche sollen in größerem Umfang wiederholt werden. Vor allem muß dafür gesorgt werden, daß die Unterlage wachsende Seitensprosse behält, die vom Reis her beeinflußt werden könnten; es scheint ja wohl möglich, daß nur polare, basalwärts gerichtete Einwirkung vorkommt.

Die zunächst auffälligste Wirkung der anomalen Wuchsstoffverhältnisse ist das exzessiv epinastische Wachstum der mittleren Laubblätter. Aber noch viel tiefer geht die Hemmung der Seitenknospen, die meist völlig unentwickelt bleiben, mitunter zu einblättrigen Sprößchen, selten zu einem starken Zweig heranwachsen. Auch der Hauptgipfel der Sprosse bleibt regelmäßig früh stecken. Auffällig ist, daß eine wenn auch geringe Zahl von Seitenknospen immer ganz normalen Blüten die Entstehung gibt, die Blütenbildung also unter der Disharmo-

nie der Wuchsstoffe weniger leidet als die Verzweigung im vegetativen Bezirk. Schwache Störung kommt in der Dreigliedrigkeit der Blattkreise zum Ausdruck, stärkere in der Bildung sehr kleiner unvollkommener Blüten ohne Fruchtknoten. Die Wachstumsweise der „blinden" Krüppel ist als sehr frühe schwere Störung des Hauptvegetationspunktes zu verstehen, der über den immer normalen Kotyledonen nur wenige Blätter oder ein einziges Blatt zuwege bringt. Auffallend ist dem gegenüber der ganz gesunde Wuchs, den die jungen Sprosse zeigen, wenn der Vegetationspunkt nicht zugrunde geht. Erst nach der kurzen Blühperiode stellt der Stengelgipfel sein Wachstum plötzlich ein, unter Erscheinungen, die noch nicht genauer untersucht sind; nicht einmal der Zeitpunkt ist genau bekannt.

Abb. 7. *Z-amphivelutina helix* cruciat, als kleine Rosetten auf Stengel von *Oe. biennis* gepfropft im Juli 1952, aufgenommen 15. 4. 53.

Die nächste Aufgabe wird sein, den Fehler in der Zusammensetzung der Wuchsstoffgarnitur der *helix*-Formen ausfindig zu machen; freilich müssen wir dazu erst die normale kennen.

Bemerkenswert ist noch, daß die schwächeren Grade der Blattdeformation, nämlich Faltung und Abwärtskrümmung der Laubblätter, auch bei der 15chromosomigen Mutante *dependens* vorkommen, also eine leichte, im Wesen vielleicht ähnliche Alteration des Wuchsstoffsystems auch durch das Vorhandensein eines überzähligen Chromosoms, in diesem Fall des Chromosoms 3.11 von *gaudens* bzw. *rubens*, verursacht werden kann. Es ist wohl auch kein Zufall, daß die *dependens*-Typen außerdem nach den *helix*-Formen die größten Krönchenzähne an der Frucht besitzen (vgl. RENNER 1949, S. 4). In anderer Weise anomal dürfte die Wuchsstoffbildung bei der schlanken, lange fortwachsenden trisomen Mutante *cana* sein, mit dem überzähligen Chromosom 3.4 von *velans* (vgl. RENNER 1940, S. 278, Fig. 7), und wieder anders bei der alten DE VRIESschen Mutante *lata*, mit 5.6 aus *gaudens* oder *rubens* als Überzähligem, die sehr niedrig bleibt und gewöhnlich breite, stumpfe Blätter besitzt. Eine physiologische Charakterisierung aller dieser aberranten Typen hätte wohl bei der Analyse der Wuchsstoffe einzusetzen, bei der Prüfung der Frage, ob nur das Mengenverhältnis

der — noch nicht zu gut — bekannten Wuchsstoffe oder die Qualität gewisser Wirkstoffe verändert ist.

Belege[1].

1. *Z-amphivelutina helix* cruciat großblütig.

2834a. *Z-amphivel.* Nr. 17 [aus (*Lamarckiana* × *atrovirens*) *velutiflexa* F_2] *Lor Lor* großblütig, Kronbl. 34:40 mm, selbst: 104 grüne Sämlinge, blühend 104 Pflanzen; die meisten normalwüchsig, 13 mit dunkelgrünen dicken seltsam verkrümmten Blättern, mut. *helix*, extrem cruciat, Kronbl. 25 oder 30 mm lang. 40/172, wiederholt nach 1943, Nr. 2598. D_1.

2834b. *Z-amphivel. hel.* cruc. (aus 40/172) selbst: Samen schlecht gereift, schlecht keimend; blühend 2 *helix*, voll cruciat, groß wie die Mutter. 41/74, wiederholt nach 1943, Nr. 2606. D_2.

2834c. *Z-amphivel. hel.* cruc. (aus 71/74) selbst: 40 *helix* cruciat, sehr gesunde Sämlinge, etwa 12 Blätter normal, dann sehr bald die extreme Verkrümmung, Brakteen erst blaß. 42/86, wiederholt nach 1943, Nr. 2607. — Nochmals gesät: 45 *Z-amphivel. hel.* cruc. 43/69. D_3.

2835. *Z-amphivel. hel.* cruc. großblütig (aus 43/69) selbst: 24 *helix*. 46/130. D_4.

2836. *Z-amphivel. hel.* cruc. großblütig (aus 46/130) selbst: 19 Sämlinge. 7 Krüppel, 12 blühend *helix*. 48/17. — Nochmals gesät: 55 blühende *helix*, in den Keimschalen viele Krüppel, auch Becher dabei. 49/197. — Nochmals gesät: 20 Sämlinge, viele Krüppel, 9 *helix* im Beet, sehr dickstenglig. 50/118. D_5.

2837. *Z-amphivel. hel.* cruc. (aus 48/17) selbst: 105 Sämlinge, viele Krüppel dabei. Blühend 39 *helix*, unverzweigt. Zweijährig blühen 1950 13 *helix* unverzweigt, 3 verzweigt. 49/52. D_6.

2838. *Z-amphivel. hel.* cruc. großblütig (2jährig aus 49/52) selbst: 60 *helix* cruciat. 51/155. — Nochmals gesät: 8 Sämlinge blind, blühend 21 *helix* cruciat. 52/151. D_7.

2839. *Z-amphivel. hel.* cruc. großblütig (aus 51/155): 8 Sämlinge blind, blühend 23 *helix* cruciat. 52/143. D_8.

2. Entstehung von *Z-amphivelutina helix* cruciat kleinerblütig.

2840. *Z-amphivel. hel.* cruc. (aus 42/86) × *atrovirens*: blühend 44 *velutiflexa*, gelbgrün, cruciat, ganz ohne *helix*-Defekte. 43/117.

2841. *Velutiflexa* cruciat *hel*/+ ^{hel} (aus 43/117) selbst: 5 *velutiflexa* cruciat + ^{hel}, 31 *Z-amphivelutina* cruciat, teils + ^{hel}, teils *helix*, in 2 Blütengrößen. 44/382. D_1.

2842. *Z-amphivel. hel.* cruc. kleinerblütig (aus 44/382) selbst: 8 Krüppel eingegangen, 13 *helix* blühend. 46/137. D_2.

2843. *Z-amphivel. hel.* cruc. kleinerblütig (aus 46/137) selbst: 24 *helix* blühend. 49/176. D_3.

2844. *Z-amphivel. hel.* cruc. kleinerblütig (aus 49/176) selbst: 30 *helix*. 50/112. D_4.

2845. *Z-amphivel. hel.* cruc. kleinerblütig (aus 50/112): 30 *helix* cruciat. 51/156. — Nochmals gesät: 8 blinde Sämlinge, blühend 47 *helix* cruciat. 52/152. D_5.

3. Entstehung von *Z-amphivelutina helix* normalkronig.

2845a. *Z-amphivelutina* + ^{hel} normalkronig großblütig (aus 41/54) × *Z-amphivelutina helix* cruciat (aus 41/74): 52 *Z-amphivelutina* + ^{hel}, keine *helix* dabei. Kronen etwa zur Hälfte normal, zur anderen Hälfte cruciat, Kl. I oder intermediär, auch sektorial gemischt. Wiederholt aus 1943 Nr. 2608. 42/87.

---

[1] Die Nummern der Belege schließen an die Arbeit von 1949 an.

2846. *Z-amphivel.* + *hel* voll cruciat (aus 42/87) selbst: 37 + *hel*, davon 36 cruciat, groß- und mittelblütig, 1 normalkronig; 7 *helix* cruciat. 43/130.

2847. *Z-amphivel.* + *hel* ganz breitkronig (aus 42/87) selbst: 74 *Z-amphivel.* + *hel*, teils normalkronig, teils cruciat; 7 *helix*, teils normalkronig, Kronbl. bis 57:65 mm, teils cruciat. *Helix* schossen etwas vor den anderen, schon bei 15—20 cm Höhe die Blätter blaßgrün und verkrümmt. 43/176. Abb. 2 und 3.

2848. *Z-amphivel.* + *hel* (aus 43/176) selbst: 12 *Z-amphivel.* normalkronig, 9 + *hel*, 3 *helix*. 46/139.

2849. *Z-amphivel. hel.*, normalkronig (aus 43/176) selbst: 14 *Z-amphivel. hel.*, normalkronig. 46/131. D_2.

2850. *Z-amphivel. hel.* normalkronig (aus 46/139) selbst: 3 *helix* normalkronig, 2 ganz unverzweigt, 1 mit einem steilen Seitenast. 49/179. D_3.

2851. *Z-amphivel. hel.* normalkronig (aus 49/179) selbst: 4 *hel.* normalkronig, schlecht blühend; viele Samen nicht gekeimt. 50/115. D_4.

2852. *Z-amphivel. hel.* normalkronig (aus 50/115): 3 blinde Sämlinge, blühend 9 *helix* normalkronig. 52/144. D_5.

4. Entstehung von *Lamarckiana helix*.

2853. *Lamarckiana* (Bretagne) (aus 41/78) × *Z-amphivel. hel.* cruc. (aus 41/74, Nr. 2834c): 7 *Z-amphivel.* + *hel* = *velans* · *Z-velans hel*, 3 stark defekt, Kl. IV—II, 4 Kl. V; 16 *Lamarckiana* = *gaudens* · *velans hel*, meist Kl.V, selten defekt Kl.IV; 3 *gaudens* · *Z-velans hel*, Krone intermediär. Alle Pfl. + *hel*. 42/89.

2854. *Lamarckiana* normalkronig Kl. V (aus 42/89) selbst: 70 *Lamarckiana* normalkronig, davon 66 + *hel*, 4 *helix*, nicht sehr ausgeprägt, Infloreszenz unterbrochen, Verzweigung nach *helix*-Art, 1—3 Äste bogig aufsteigend, Blattnerv ziemlich breit, Blätter bucklig. 43/122.

2855. *Lamarckiana helix* normalkronig (aus 43/122) selbst: 7 *Lamarckiana helix* normalkronig blühend, 5 Krüppel eingegangen. 46/132.

2856. *Lamarckiana helix* normalkronig (aus 46/132) selbst: schlecht gekeimt, nur krüppelhafte Sämlinge — nicht ausgepflanzt. 49/178.

2857. *Z-Lamarckiana* (aus 42/89) (1) selbst: 41 *Z-Lamarckiana*, teils normalkronig, teils cruciat, teils intermediär, groß- und kleinblütig; 1 *Z-Lamarckiana helix*, niedrig, unverzweigt. 34/170.

2858. *Z-amphivel.* breitkronig, etwas defekt (aus 42/89) 1 selbst: *Z-amphivel.* 59 + *hel*, meist cruciat, 8 normalkronig, teilweise intermediär, größte Kronbl. 48:60 mm; 16 *Z-amphivel. helix* cruciat, manchmal 3 Petala. 43/121.

5. Entstehung von *Hookeri helix*.

a) Aus Z-amphivelutina helix.

2859. *Hookeri* Standard (aus 46/2) × *Z-amphivel. hel.* cruc. großblütig (aus 46/130): 67 blühend, die *Hookerivelutina* normalkronig, die *Z-velutina* mit schlankeren, rotbraunen Knospen cruciat bis intermediär. 49/180.

2860. *hookerivelutina* normalkronig (aus 49/180) selbst: 100 normalkronig, schwer zu definieren, was *Hookeri* und was *velutina*, groß- und kleinblütig; davon 8 *helix*. 50/117.

2861. *hookeri* (?) *hel.* normalkronig (aus 50/117) selbst: 60 Sämlinge, viele blinde Krüppel, 25 ausgepflanzt, ausgeprägt *helix*. 51/158.

2862. *hookeri-Z-velutina* cruc. (aus 49/180) selbst: über 100 Stück, schwer zu definieren, teils normalkronig, teils cruciat, auch intermediär, groß- und kleinblütig; 2 *helix* sehr typisch. 50/116.

b) Aus Lamarckiana helix.

2863. *Hookeri* Standard (aus 43/11) × *Lamarckiana helix* (aus 43/122, Nr. 2854,): 26 *hookerivelutina*, 15 *hookerilaeta*, beide ganz typisch, normalkronig, doch in 2 Blütengrößen. 46/136.

2864. *hookerilaeta* (aus 46/136) selbst: 68 Pflanzen, teils *hookerilaeta*, *teils Hookeri*, unter den *laeta* 1 *helix*, unter den *Hookeri* keine. 47/32.

2865. *hookerilaeta helix* (aus 47/32) (1) selbst: 40 Sämlinge, darunter mehrere Krüppel; blühend 23 sehr dickstengelige *Hookeri helix*, schlecht blühend, Kronbl. breit ohne Defekte, Blätter verkrümmt. 49/53. D_1.

2866. *Hookeri helix* (aus 49/53) selbst: 60 Sämlinge, viele Krüppel; im Beet 14 *Hookeri helix*, hoch mit dickem unverzweigten Stengel, mit großen breiten Blättern, sehr schlecht blühend. 50/108. D_2.

2867. *Hookeri helix* (aus 50/108) selbst: 24 Sämlinge, dabei viele blinde Krüppel, nur 6 ausgepflanzt und blühend, typische *helix*. 51/157. D_3.

2868. *Hookeri helix* (aus 51/157) selbst: 25 Sämlinge, alle blinde Krüppel, ohne Stengel, teilweise Becher. 52/145. D_4.

2869. *hookerivelutina* (aus 46/136) selbst: 55 Pflanzen, schwer zu definieren, teils *hookerivelutina*, teils *Hookeri*; 2 *helix*, wohl *velutina*, Infloreszenzen typisch *helix*, 1 unverzweigt, 1 mit 2 Grundseitensprossen, Blätter nicht verkrümmt, nur die Brakteen wellig. 47/33.

2870. *hookerivelutina* (?) *helix* (aus 47/33) selbst: 36 Sämlinge, viele Krüppel, 13 blühende *helix*, wie *Hookeri*, mächtig starke Stengel, besser verzweigt als *helix* sonst. 49/54.

6. Entstehung von *veloblandina (levovelutina) helix.*

2871. *Z-amphivel. hel.* cruc. kleinblütig (aus 50/107) × *blandina cr sp* (aus 50/80): 53 streng cruciat, meist *veloblandina*, wenige *Z-veloblandina*. 51/163.

2872. *blandina cr sp* (aus 50/92) × *Z-amphivel. hel.* cruc. kleinblütig (aus 50/112): 20 *levovelutina* cruciat, 14 *levo-Z-velutina* cruciat, buschiger, Blätter stärker gezähnt. 51/164.

2873. *blandina cr sp* (aus 50/80) 5 × *Z-amphivel. hel.* cruc. großblütig (aus 50/118): 30 *levovelutina*, cruciat, 4 *levo-Z-velutina* cruciat. 51/165.

2874. *blandina cr sp* (aus 50/80) 4 × *Z-amphivel. hel.* cruc. kleinbl. (aus 50/112): 13 *levovelutina*, oft etwas breitlich, 15 *levo-Z-velutina* streng cruciat. 51/166.

2875. *albi-Z-velutina* cruc. (aus 50/119) × *blandina cr sp* (aus 50/80): 4 *Z-veloblandina* cruciat, 5 *albiblandina* cruciat. 51/162.

2876. *veloblandina* cruc. (aus 51/163, Nr. 2871) selbst: 81 blühend, wie *veloblandina*, alle cruciat, etwa 10 *helix*, nicht extrem, Blätter dick, *dependens*-artig, Seitensprosse teilweise normal, Stengel teilweise sehr dick. 52/146.

7. Entstehung von *albivelutina helix.*

2877. *biennis sulfurea* (aus 41/9) × *Z-amphivelutina helix* cruciat (aus 41/119): 13 *albivelutina*, meist normalkronig, Früchte dick; 13 *Z-albivelutina* meist cruciat, Früchte dünn; keine *helix*-Defekte. 43/70.

2878. *biennis sulfurea* (aus 46/134) × *Z-amphivel. hel.* cruc. großblütig (aus 46/130): 56 blühend, weniger *albivelutina* normalkronig, mehr *Z-albivelutina*, meist streng cruciat, selten intermediär; keine *helix*-Defekte. 49/177. — Nochmals gesät: 29 blühend, teils *albivelutina* normalkronig, teils *Z-albivelutina* streng cruciat, keine *helix*-Defekte. 50/119.

2879. *albivelutina* + ^{hel} normalkronig (aus 49/177) selbst: 32 *albivelutina*, + ^{hel} normalkronig 15, + ^{hel} extrem cruciat 14, *helix* 2 nicht sehr extrem. 50/114.

2880. *albivelutina helix* (aus 50/114) spontan bestäubt: 40 Sämlinge, mehrere blinde Krüppel; 20 ausgepflanzt, davon 4 *helix*. 51/160.

2881. *albivelutina* + ^{hel} normalkronig (aus 50/119) × *blandina cr sp* (aus 50/80), *veloblandina* cruciat 20, intermediär 2, normalkronig 5; *albiblandina* 2, davon 1 normalkronig, 1 recht defekt. 51/161.

Zusammenfassung.

Die rezessive Mutante *helix*, gekennzeichnet durch starke, oft schnekkenförmige Verkrümmung der mittleren Laubblätter, Hemmung der allermeisten Seitenknospen, deshalb meist unverzweigte, immer sehr dicke Stengel, nicht seltene Hemmung sogar des Vegetationspunktes am ganz jungen Sämling, ist aufgetreten in einer F_3 der Kreuzung *Oe. Lamarckiana* × *atrovirens* an der *Z-amphivelutina* genannten Bastardform, die die Konstitution *velans* · *fl-flectens* (oder *velans* · *Z-velans*) hat.

Durch geeignete Kreuzungen haben auch *Oe. Lamarckiana*, *Oe. (Hookeri* × *Lamarckiana) laeta*, *Oe. (Hookeri* × *Lamarckiana) velutina*, *Oe. Hookeri*, *Oe.(biennis* × *Lamarckiana) albivelutina* sich in der *helix*-Form als crossovers darstellen lassen. Sie zeigen die Deformation der Blätter meist schwächer, die übrigen Charaktere der *helix* aber sehr ausgeprägt.

Pfropfungsexperimente, die bei positivem Ergebnis einer Beeinflussung wohl etwas über die Art der Wuchsstoffanomalie würden aussagen lassen, haben noch zu keinem Erfolg geführt.

Überraschend ähnliche Blattdeformation, die wohl auf eine wenigstens zum Teil ähnliche Wuchsstoffanomalie zurückgeht, findet sich bei der 15-chromosomigen, also quantitativ unharmonisch konstituierten Mutante *dependens*.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, früher Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, habe ich für die langjährige Unterstützung meiner Studien zu danken.

Literatur.

Renner, O.: Über das crossing-over bei *Oenothera*. Flora (Jena) **136**, 117 (1942). — Zur Kenntnis der 15chromosomigen Mutanten der *Oenothera Lamarckiana*. Flora (Jena) **134**, 257 (1943). — Zur Kenntnis des Pollenkomplexes *flectens* der *Oenothera atrovirens*. Z. Vererbungslehre **81**, 391 (1943). — Die 15chromosomigen Mutanten der *Oenothera Lamarckiana* und ihrer Verwandten. Z. Vererbungslehre **83**, 1 (1949).

Prof. Dr. O. Renner, Botanisches Institut der Universität München, Menzinger Str. 67.

Planta, Bd. 42, S. 42—55 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn.

WEITERE BEOBACHTUNGEN ÜBER DAS WELKEN EPHEMERER BLÜTEN*.

Von

WALTER SCHUMACHER.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. März 1953.)

Im Jahre 1931 hat der Verfasser erstmalig über rasch verlaufende Eiweißspaltungen und N-Auswanderungen in welkenden Blütenblättern berichtet und sie als „die ersten, bis jetzt faßbaren Veränderungen" bezeichnet, die „den äußerlich sichtbaren Postflorationserscheinungen zeitlich vorausgehen". Mit dieser Formulierung sollte bereits angedeutet werden, daß zwar ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem Turgorverlust und dem Eiweißzerfall vermutet wurde, daß aber die beobachteten Vorgänge im Eiweißstoffwechsel nicht unbedingt schon das erste Glied in der Kette der Prozesse darstellen mußten, die zu der oft so überraschend schnell erfolgenden Vernichtung zarter Blütenblätter führen. Im folgenden soll über einige weitere Beobachtungen berichtet werden, die es erlauben, unsere Einsicht in den Ablauf dieser merkwürdigen, zum Tode führenden Vorgänge um einen weiteren Schritt vorzuschieben.

I. Der Einfluß der Temperatur auf die Lebensdauer ephemerer Blüten.

Die auch im Blumenhandel seit langem praktisch genutzte Erfahrung, daß niedere Temperaturen die Lebensdauer blühender Pflanzen verlängern, ermöglicht gerade bei sehr kurzlebigen ephemeren Blüten erstaunlich starke Eingriffe und wichtige Folgerungen. So ist es z. B. möglich, die Blütenblätter von *Hydrocleis nymphoides*, die im Freilandbecken des hiesigen Gartens bei normalen Sommertemperaturen (20 bis 25°) eine Lebensdauer von etwa 8 Std besitzen, im Kühlschrank bei + 5° etwa 9—10 Tage frisch zu halten. Die Basalteile der Petala können hierbei sogar eine Dauer von 3—4 Wochen erreichen. Dies bedeutet für eine Temperaturdifferenz von 15—20° eine Verlängerung der Lebensdauer um das 30—60fache, oder umgekehrt eine Beschleunigung der zum Tode führenden Prozesse bei Temperaturerhöhung um dieselben Größen. Ähnliche starke Wirkungen sah ich auch bei den Blüten von *Portulaca grandiflora*, deren Blütenblätter normalerweise 6—8 Std, bei

* Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. RUHLAND, zum 75. Geburtstag zugeeignet.

+ 5° aber über 10 Tage frisch blieben. *Ipomoea Learii* erreichte bei + 5° 96 Std gegenüber 9—10 Std bei 22°, *Ipomoea purpurea* 48 Std gegenüber 6 Std, *Tradescantia virginica* 108 Std gegenüber 12 Std bei 19°, *Tinantia fugax* 36 Std gegen $3^1/_2$ Std bei 19°, *Commelina coelestis* 24 Std gegenüber 4 Std bei 25°, *Tigridia pavonia* 40 Std gegenüber 8 Std bei 23°, *Calandrinia grandiflora* 36 Std gegen 4 Std bei 23°, um nur einige Größenordnungen zu nennen.

Schon relativ kleine Temperaturdifferenzen können sich in der Lebensdauer ausdrücken. So wurde bei gleichzeitig aufgeblühten und abgeschnittenen, in Wasser gestellten Blüten von *Hydrocleis* beobachtet, daß ihre Blütenblätter bei 29° nach 8 Std zu etwa $^2/_3$, bei 23° zu etwa

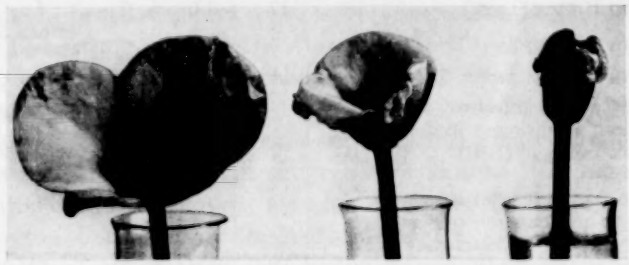


Abb. 1. *Hydrocleis nymphoides*. Drei gleichzeitig abgeschnittene Blüten, links in HCN-Dampf, Mitte bei 23°, rechts bei 29° 9 Std in Luft.

$^1/_3$ zerstört waren (Abb. 1 rechts), während bei 19,5° erst nach einer weiteren Stunde überhaupt Anzeichen des beginnenden Welkens sichtbar wurden. Bei 18° aber wurde dieses Stadium erst nach weiteren 2 Std erreicht. Eine Temperaturdifferenz von nur $1^1/_2$° führte also bereits zu einer Verlängerung der Lebensdauer von einigen Stunden! Auch im Freiland kann man gelegentlich ähnliche Beobachtungen machen, wenn die im Schatten anderer Gewächse stehenden Blüten von *Hydrocleis* am Abend deutlich länger frisch bleiben als die direkt von der Sonne beschienenen Exemplare.

Um etwas Einblick in das Wesen dieser auffälligen Temperaturwirkung zu erhalten, habe ich geprüft, zu welchem Zeitpunkt nach dem Öffnen der Blüte die Kühlung angesetzt werden muß, um noch eine Wirkung auf die Lebensdauer zu erzielen.

Wie aus Tabelle 1, die einige Beipiele enthält, hervorgeht, werden die stärksten das Leben verlängernden Wirkungen erzielt, wenn die Blüten sofort nach der Öffnung der tieferen Temperatur ausgesetzt werden. Kühlt man erst kurz vor dem bei der betreffenden Temperatur zu erwartenden Abwelken der Blüte, so ist, auch wenn den Blüten beim Einbringen in den Kühlschrank äußerlich noch nichts anzumerken ist, der Zusammenbruch nicht mehr aufzuhalten, wenn auch die Symptome des Absterbens (Infiltrationen, Welken und schließlich völlige Auflösung)

Tabelle 1. *Einfluß der Wärmevorbehandlung auf die Lebensdauer bei tiefen Temperaturen.*

Hydrocleis nymphoides 6. 8. 8^{30} Uhr bei + 25° aufgeblüht.

Zeitdauer der Vorbehandlung bei + 25° vor dem Einbringen in den Kühlschrank bei + 5° (Std) . .	0	1	$2^1/_4$	$3^1/_4$	$3^3/_4$	dauernd + 25°
Zeit bis zum Auftreten der ersten Infiltrationen an den nach obiger Vorbehandlung im Kühlschrank befindlichen Blüten (Tage) . . .	12	9	5	$4^1/_2$	9 Std	etwa 6 Std
Zeit bis zur fast völligen Vernichtung der im Kühlschrank (+ 5°) verweilenden Blüten (Tage) . . .	29	17	11	7	1 (Basis 5)	etwa 9 Std

Tinantia fugax 15. 9. sofort nach Öffnung abgeschnitten.

Zeitdauer der Vorbehandlung bei + 19° vor dem Einbringen in den Kühlschrank bei + 5° (Std). . .	0	1	2	$2^3/_4$	dauernd + 19°
Zeit bis zum Auftreten der ersten Infiltrationen an den nach obiger Vorbehandlung im Kühlschrank befindlichen Blüten (Std) . . .	30	$26^1/_2$	$11^1/_2$	$7^1/_2$	$6^1/_2$

Commelina coelestis 13. 8. 8^{30} Uhr bei + 25° abgeschnitten.

Zeitdauer der Vorbehandlung bei + 25° vor dem Einbringen in den Kühlschrank bei + 5° (Std). . .	0	1	$1^1/_2$	$2^1/_4$	$3^1/_4$	dauernd + 25°
Zustand der nach obiger Vorbehandlung im Kühlschrank befindlichen Blüten nach 10 Std. . .	frisch	frisch	frisch	Rand infiltriert	ziemlich vernichtet	völlig vernichtet
Nach 24 Std	Rand infiltriert	$^2/_3$ vernichtet	völlig vernichtet			

langsamer als gewöhnlich voranschreiten. War die Blüte vor dem Einsetzen der Kühlung verschieden lange normaler oder gar erhöhter Außentemperatur ausgesetzt, so wird die darauf im Kühlschrank erreichte Lebenszeit um so mehr verkürzt, je länger die Blüte vorher der höheren Temperatur unterworfen war.

Diese sehr klaren Beziehungen legen den Schluß nahe, daß in den Blüten etwa gleichzeitig mit der Öffnung Prozesse einsetzen, in denen, wie die strenge Temperaturabhängigkeit zu verraten scheint, offenbar nur begrenzt vorhandene Stoffmengen umgesetzt werden, deren Verschwinden oder deren Umsetzungsprodukte den Zusammenbruch einleiten. Da gerade bei den so empfindlichen *Hydrocleis*-Blüten von mir

schon früher gefunden worden war, daß der Eiweißbestand der Blütenblätter beim Aufblühen über mehrere Stunden hinweg bis kurz vor dem äußerlich erkennbaren Beginn der Infiltrationen konstant bleibt, kann es sich bei diesen temperaturabhängigen Vorgängen aber nicht um die Eiweißhydrolyse selbst handeln, sondern nur um Prozesse, die dieser noch *vor*geordnet sind.

Für die Frage nach der Natur dieser Vorgänge sind vor allem 2 Beobachtungen wichtig: 1. Abgeschnittene und von der Blüte isoliert im feuchten Raum aufbewahrte Blütenblätter sterben bei derselben Temperatur zur gleichen Zeit wie die an der Blüte und an der Pflanze belassenen (*Hydrocleis*, *Tradescantia*, *Iris*, und andere), d. h. eine eventuelle Zufuhr weiterer Stoffe aus der restlichen Pflanze in die geöffnete Blüte kann für die Lebensdauer und die diese begrenzenden Stoffumsetzungen nicht von Bedeutung sein. 2. Die Abnahme der Trockensubstanz in den Blütenblättern während der Anthese ist wenigstens bei *Hydrocleis* so gering, daß der naheliegende Gedanke, die Blütenblätter stürben nach Erschöpfung des in ihnen vorhandenen Atmungsmaterials, nicht zutreffen kann. Tabelle 2 enthält einige diesbezügliche Messungen an den Blütenblättern von *Hydrocleis*, die klar erkennen lassen, daß von einer nennenswerten Veränderung im Bestand der Trockensubstanz während der entscheidenden Stunden vor dem Zusammenbruch nichts zu bemerken ist.

Tabelle 2. *Hydrocleis nymph. Frisch- und Trockengewicht der Blütenblätter.*

Nr.	Objekt		Zeit	Temperatur °C	Fläche cm²	Frischgewicht mg	Trockengewicht mg	Trockengewicht in % des Frischgewichtes	Trockengewicht in % des Frischgewichtes der Flächeneinheit (10 cm²)
I	3 gleichzeitig aufgeblühte, abgeschnitten mit Stielen in Wasser stehende Blüten	1. Blatt	10^{20}	23—24	39,5	591,7	25,2	4,3	4,3
		2. Blatt	13^{25}	23—24	45,5	682,1	25,6	3,8	3,7
		3. Blatt	15^{10}	23—24	44,7	668,5	23,8	3,6	3,5
II	3 gleichzeitig aufgeblühte Blüten, abgeschnitten mit Stielen in Wasser stehend	1. Blatt	10^{50}	21—22	36,8	515,5	23,4	4,6	4,5
		2. Blatt	15^{50}	21—22	44,5	609,6	23,8	4,0	3,9
		3. Blatt	17^{10}	21—22	45,3	617,3	24,1	3,9	3,9
III	Blütenblätter von 4 halb aufgeblühten Blüten, gleichzeitig isoliert unter feuchter Glocke liegend	1. Blatt	11^{30}	21—22	33,7	473,3	21,2	4,5	4,5
		2. Blatt	16^{30}	21—22	33,1	453,6	21,3	4,7	4,7
		3. Blatt	19^{30}	21—22	34,2	450,8	21,0	4,7	4,6
IV	4 noch nicht ganz aufgeblühte Blüten abgeschnitten mit Stielen in Wasser	1. Blatt	13^{45}	25—26	42,9	600,8	24,9	4,1	4,1
		2. Blatt (erste Infiltration)	16^{30}	25—26	43,6	600,5	26,0	4,2	4,3

Während in den beiden ersten Versuchen noch Flächenwachstum und entsprechende Zunahme des Frischgewichtes erfolgten, waren die beiden anderen Versuche so gewählt, daß diese Veränderungen weitgehend ausgeschaltet waren. Sowohl auf Fläche wie auf Frischgewicht bezogen liegen die Schwankungen des Trockengewichtes noch innerhalb der bei solchen Bestimmungen unvermeidlichen Fehlergrenze und erreichen in keinem Fall eine Größe, die auf starke Atmungsverluste schließen läßt.

Hiermit stimmt überein, daß Versuche, durch Zuckerfütterung Einfluß auf die Lebensdauer zu gewinnen, bisher ohne Erfolg geblieben sind. Ich habe 1%ige und 5%ige Lösungen von Glucose, Fruktose, Maltose und Galaktose durch die Stiele aufsteigen lassen, teilweise auch bei Knospen, die während des beschränkt auch noch nach dem Abschneiden fortdauernden Streckungswachstums ihrer Blütenblätter zum mindesten noch Wasser aufnahmen, ohne irgendeine Wirkung zu finden. Auch aus der Knospe isolierte, erst halb herangewachsene Blütenblätter starben, auf Glucoselösung schwimmend bzw. damit infiltriert, bei konstanter Temperatur zu derselben Zeit ab wie voll ausgewachsene, nur mit Wasser behandelten Kontrollen.

Daraus ist zu folgern, daß die vor der Eiweißspaltung liegenden und aus der eigentümlichen Temperaturwirkung erschlossenen Prozesse kaum im eigentlichen Kohlenhydratstoffwechsel ablaufen können.

II. Der Einfluß schwacher Blausäuregaben auf die Lebensdauer ephemerer Blüten.

Die folgenden Versuche schienen allerdings zunächst in eine andere Richtung zu weisen. Es gelang nämlich ganz leicht, bei einer ganzen Anzahl ephemerer Blüten mit sehr schwachen Blausäuremengen eine erhebliche Verlängerung der Lebensdauer zu erzielen. Bringt man kurz nach dem Aufblühen abgeschnittene und mit etwa 6 cm langen Stielen in Wasser gestellte Blüten von *Hydrocleis* unter größere Glasglocken (8—40 Liter), unter denen gleichzeitig ein offenes Glasschälchen mit 10—20 cm^3 $^1/_{100}$—$^1/_{200}$ molarer KCN-Lösung aufgestellt wird, so beobachtet man, daß sie unter der Wirkung der geringen aus der Lösung verdampfenden Blausäuremenge bis zu 5mal so lange frisch und am Leben bleiben wie gleichzeitig unter gleichen Bedingungen, aber ohne KCN aufgestellte Kontrollen. Daß die Dauer der erzielten Wirkung diejenige einer Tiefkühlung nicht erreicht, kann nicht besonders wundernehmen, da es sich ja auf alle Fälle um eine Giftwirkung handelt, die — unter anderem vielfach auch die Atmung betreffend — sicher nur sehr begrenzt ertragen wird.

Tabelle 3 gibt aus einer großen Anzahl von Versuchen, auch an anderen Pflanzen, einige Beispiele, Abb. 1—4 zeigen die Wirkung der Blausäurebegasung auf einigen photographischen Aufnahmen.

Tabelle 3. *Lebensdauer verschiedener Blüten unter HCN-Wirkung.*

Datum	Objekt	Art der Behandlung	Temperatur	Dauer in Stunden bis zur 1. Infiltration bzw. zum Welkebeginn	
			°C	Luft	KCN
5. 7. 36	*Hydrocleis nymphoides*	12^{30} Uhr je 3 Blüten unter 8-Liter-Glocke, eine Reihe mit 20 cm³ $^1/_{100}$ KCN	21	6	>30
9. 8. 36	*Hydrocleis nymphoides*	11^{30} Uhr je 3 Blüten unter 8-Liter-Glocke, eine Reihe mit 30 cm³ $^1/_{100}$ KCN	21—22	9	34—48
14. 8. 36	*Hydrocleis nymphoides*	18 Uhr je 2 Blüten mit eben beginnender Randinfiltration, eine Reihe mit 30 cm³ $^1/_{100}$ KCN	21	1	1 bis zur völligen Vernichtung
15. 8. 36	*Hydrocleis nymphoides*	15 Uhr je 2 Blüten, noch intakt, aber sicher kurz vor Infiltration, eine Reihe mit 30 cm³ $^1/_{200}$ KCN	27	$^1/_2$	$^1/_2$
11. 8. 36	*Convolvulus tricolor*	9 Uhr je 2 Blüten, eine Reihe unter 8-Liter-Glocke mit 30 cm³ $^1/_{100}$ KCN	22	7	28
16. 8. 36	*Oenothera longiflora*	je 3 Blüten am Abend vorher aufgeblüht, eine Reihe $^1/_2$10 Uhr unter 8-Liter-Glocke mit 30 cm³ $^1/_{200}$ KCN	21	10	etwa 20
17. 8. 36	*Oenothera longiflora*	je 1 Knospe 19^{45} Uhr abgeschnitten, in Wasser aufspringend, 1 Blüte unter 8-Liter-Glocke mit 30 cm³ $^1/_{200}$ KCN	23	<12	>24
17. 6. 52	*Oenothera missouriensis*	je 1 Blüte, vollgeöffnet, 11 Uhr geschnitten, 1 Blüte unter 40-Liter-Glocke mit 10 cm³ $^1/_{100}$ KCN	19	etwa 7	<48
19. 6. 52	*Oenothera missouriensis*	je 1 Blüte, am Abend vorher aufgeblüht, 10 Uhr abgeschnitten. 1 Blüte unter 40-Liter-Glocke mit 10 cm³ $^1/_{100}$ KCN	18,5	9	24
10. 8. 36	*Pharbitis hispida*	je 2 Blüten, 10^{45} Uhr geschnitten, eine Reihe unter 8-Liter-Glocke mit 30 cm³ $^1/_{200}$ KCN	21—22	5	>9
4. 6. 52	*Ipomoea Learii*	je 1 Blüte desselben Blütenstandes 10 Uhr geschnitten, 1 Blüte unter 40-Liter-Glocke mit 10 cm³ $^1/_{100}$ KCN	18	6	etwa 23
5. 8. 52	*Ipomoea purpurea*	je 1 Blüte 8^{30} Uhr aus Freiland, eine Blüte unter 2-Liter-Glocke mit 10 cm³ $^1/_{100}$ KCN	20,5	$1^1/_2$	9
1. 8. 52	*Tigridia pavonia*	je 1 Blüte 8^{30} Uhr aus Freiland, eine Blüte unter 2-Liter-Glocke mit 10 cm³ $^1/_{100}$ KCN	19—20	etwa 8	24

Tabelle 3. (Fortsetzung.)

Datum	Objekt	Art der Behandlung	Temperatur	Dauer in Stunden bis zur 1. Infiltration bzw. zum Welkebeginn	
			°C	Luft	KCN
28. 8. 36	*Tigridia pavonia*	von einer 11 Uhr im Freiland geschnittenen Blüte 2 Blätter unter 8-Liter-Glocke mit $^1/_{200}$ KCN, 1 Blatt an Luft	20	7	Rand < 21 Grund > 32
13. 8. 36	*Commelina coelestis*	je 10 Blüten 9^{10} aus Freiland, eine Reihe unter 8-Liter-Glocke mit 50 cm³ $^1/_{50}$ KCN	20	etwa 4	etwa 7
13. 8. 36	*Tradescantia virginica*	je 11 Blüten 10^{10} Uhr aus Freiland, 1 Reihe unter 8-Liter-Glocke mit 50 cm³ $^1/_{200}$ KCN	20	6	6 (erste Infiltration)
15. 8. 36	*Tinantia fugax*	je 3 Blüten 9 Uhr aus Freiland, eine Reihe unter 8-Liter-Glocke mit 30 cm³ $^1/_{200}$ KCN	21—22	3	3
11. 6. 52	*Iris Pseudacorus*	je 1 äußeres Kronblatt derselben Blüte isoliert in Deckelschale, 1 mit 10 cm³ $^1/_{100}$ KCN	18,5	nach 24 vernichtet	nach 24 noch frisch

Daß auch die Blausäure nicht die Eiweißspaltprozesse, sondern die *davor* ablaufenden noch unbekannten Vorgänge trifft, geht daraus hervor, daß ihre Wirkung ausbleibt, wenn man sie erst kurz vor dem Zusammenbruch, der ja z. B. bei *Hydrocleis* leicht an der weißlichen Verfärbung der sonst zitronengelben Blütenblätter kenntlich ist und etwa mit dem Einsetzen der Eiweißspaltung zusammenfallen dürfte, ansetzt. In solchen Fällen vermag die Blausäure die beginnende Infiltration und die restlose Auflösung der Blütenblätter nicht mehr aufzuhalten. Bringt man dagegen Blüten, die kurz nach dem Aufblühen etwa nur 2 Std dem Blausäuregas ausgesetzt waren, an die Luft zurück, so setzt ihr Welken zwar deutlich später als bei den überhaupt nicht mit Blausäure behandelten Kontrollen ein, aber doch wesentlich früher als bei Blüten, die dauernd unter Blausäureeinwirkung verbleiben. Es tritt also auch hier die schon bei der Kälteeinwirkung beobachtete quantitative Bedingtheit der Lebensdauer deutlich hervor, die darauf hindeutet, daß ein gewisses Stoffquantum umgesetzt werden muß, bis der Tod eintritt.

Nicht alle der von mir geprüften Pflanzen mit ephemeren Blüten reagieren in der geschilderten Weise gegen Blausäure. So gelingt es z. B. bei *Tradescantia virginica* und *Commelina coelestis* wesentlich schlechter, bei *Calandrinia grandiflora*, *Portulaca grandiflora*, *Tinantia fugax*

und *Hibiscus trionum* fast gar nicht, eine lebensverlängernde Wirkung nachzuweisen. Bekanntlich zeigt auch die Atmung mancher Pflanzen eine merkwürdige Unempfindlichkeit gegen dieses Gift, während andere

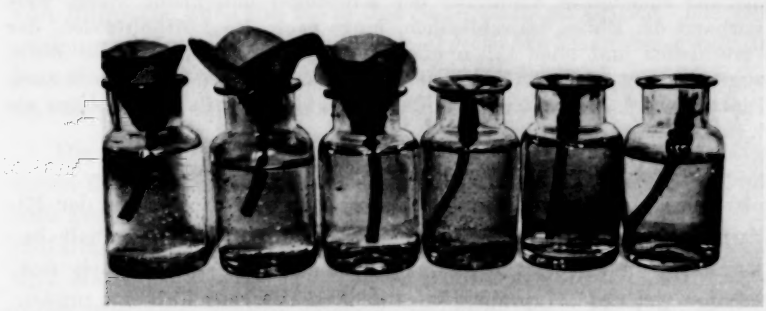


Abb. 2. Blüten von *Hydrocleis nymphoides*, links nach 24stündigem Aufenthalt in Blausäuredampf, rechts in Luft, bereits seit 12 Std vernichtet.

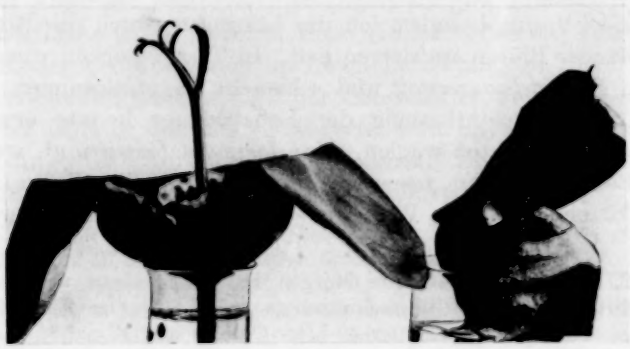


Abb. 3. *Tigridia pavonia*. Links 8 Std in HCN-Dampf, rechts 8 Std in Luft.

Abb. 4. *Ipomoea Learii*. Links 7 Std in Luft, rechts 7 Std in HCN-Dampf.

Pflanzen sehr stark darauf reagieren (s. unter anderen JAMES und BEEVERS 1950). Ob hier andere, nicht schwermetallhaltige Fermente ausgebildet werden oder besondere Eigenschaften die katalytischen Schwermetalle gegen die Blausäure abschirmen, kann nicht gesagt werden.

Das Verhalten der Blüten von *Ipomoea Learii* mag noch kurz besonders erwähnt werden. Hier schlägt die schöne tiefblaue Farbe des Blütentrichters unter der Wirkung des HCN-Gases schon nach kurzer Zeit in Violett und schließlich in Weinrot um, ohne daß sonst etwas an der Krone zu bemerken wäre. Die den normalen Abwelkevorgang einleitende Einrollung der Kronzipfel unterbleibt völlig, weit geöffnet verharrt die Blüte, bis schließlich, lange nach den Luftkontrollen, der Rand zu erschlaffen und nach außen überzuhängen beginnt, worauf die Blüte langsam zugrunde geht. Wie bei den meisten anderen Pflanzen erweist sich auch hier der Blattgrund, d. h. die Basis der Kronröhre, als wesentlich langlebiger als der Rand.

III. Die Wirkung einiger spezifischer Atmungsgifte.

Obwohl bereits einige Anhaltspunkte vorlagen, daß die vor der Eiweißspaltung liegenden Prozesse nicht den Kohlenhydrathaushalt betreffen konnten, machte es die starke Blausäurewirkung doch notwendig, einige weitere Atmungsgifte auf ihre Wirksamkeit zu prüfen. So habe ich *Jodacetat* in der Verdünnung $^1/_{1000}$, $^1/_{500}$, $^1/_{200}$ und $^1/_{100}$ mol untersucht, ferner *Kaliumfluorid* $^1/_{200}$, $^1/_{100}$, $^1/_{50}$, $^1/_{20}$ und $^1/_{10}$ mol und *Dinitrophenol* $^1/_{500}$ mol, indem ich die Lösungen durch die Blütenstiele abgeschnittener Blüten aufsteigen ließ. In Tastversuchen wurden auch *Leuchtgas*, *Schwefelwasserstoff* und schwache *Insulin*lösungen (2 E) angewendet. Eine Beeinflussung der Lebensdauer konnte erwartungsgemäß nicht beobachtet werden. Nur *Ipomoea Learii* und, wenn auch viel schwächer, *Tigridia pavonia* sprachen auf Kaliumfluorid deutlich an. Die folgenden beiden Protokolle mögen die Wirkung veranschaulichen:

17. 6. 52. *Ipomoea Learii.* Am Morgen im Gewächshaus tiefblau erblüht, 11 Uhr 4 Blüten mit Stielen abgeschnitten (t = 19°). Je eine Blüte in Wasser, $^1/_{50}$ KF, $^1/_{1000}$ Jodacetat und (unter 40-Liter-Glocke) mit 10 cm³ $^1/_{100}$ KCN.

16 Uhr: In Wasser und Jodacetat beginnende Einrollung der Kronzipfel. In KF offen, blau mit roten Flecken. In KCN offen, rot. 18 Uhr: In Wasser und Jodacetat völlig eingerollt. In KF offen, rot, Rand leicht welk. In KCN offen, rot, frisch. 10 Uhr (am 18. 6. 52): KF- und KCN-Blüten offen, rot, Rand welk, in KF stärker als in KCN.

20. 6. 52. *Ipomoea Learii.* Frisch im Gewächshaus geöffnete Blüten 10^{30} Uhr mit Stielen abgeschnitten (t = 18,5°). Je eine Blüte in Wasser, $^1/_{50}$ KF und (unter 40-Liter-Glocke) mit 10 cm³ $^1/_{100}$ KCN. 17 Uhr: In Wasser rot, Spitzen einrollend. In KF offen, blau mit roten Flecken, in KCN offen, rot, frisch. 18 Uhr: In Wasser völlig eingerollt. In KF offen, blau mit roten Flecken, Rand leicht schlaff. In KCN offen, rot, frisch. 8 Uhr (am 21. 6. 52): In KF offen, rot, Rand vernichtet, sonst frisch. In KCN offen, rot, Rand leicht schlaff.

Kaliumfluorid gilt im allgemeinen als Enolasegift, doch sind andere Angriffsstellen (am Mg ?) im Stoffwechsel nicht ausgeschlossen. Da die anderen Glykolysegifte auch bei diesem Objekt wirkungslos blieben, *Ipomoea purpurea* aber ebenso wenig wie *Hydrocleis*, *Oenothera miss.*, *Calandrinia* und Hibiscus auf KF ansprachen, möchte ich glauben, daß die spezifische Wirksamkeit des Fluorids einzig bei *Ipomoea Learii* ebenfalls nicht allein als Atmungshemmung zu deuten ist.

IV. Die Wirkung des Sauerstoffentzuges.

Bei dem Versuch, in das Wesen der Vorgänge, die sich noch vor der Eiweißhydrolyse abspielen, näher einzudringen, war es natürlich weiter von Interesse, auch die Rolle des Sauerstoffs zu prüfen. Die Blausäurewirkung und vielleicht sogar die teilweise Wirkung des Fluorids deuten ja auf die Beteiligung einer Metallkatalyse, und es war daher nicht unwahrscheinlich, daß diese Katalysen oxydativer Natur sein würden.

Die entsprechenden Versuche wurden vorzugsweise an *Hydrocleis*, deren Blütenblätter so deutlich auf Blausäure reagierten, durchgeführt, und zwar so, daß isolierte Blütenblätter von derselben Blüte in kleine (zufällig im Institut vorhandene) etwa 100 cm^3 fassende und mit Schliff und Hahn versehene Erlenmeyer-Kölbchen gebracht wurden, die teilweise mit Luft gefüllt blieben, teilweise aber auch an der Ölpumpe evakuiert bzw. mit Wasserstoff gefüllt wurden. Diese Kölbchen wurden dann, um absolute Temperaturgleichheit zu gewährleisten, unter die Wasseroberfläche eines größeren Wasserbades versenkt. Teilweise blieben die Kontrollen aber auch im freien Luftraum. In allen Versuchen konnte beobachtet werden, daß der Sauerstoffentzug die Lebensdauer der *Hydrocleis*blüten deutlich verlängerte, wenn auch nicht ganz so stark, wie dies unter Blausäureeinwirkung geschah. Ein Protokollauszug aus einem der Versuche mag dies veranschaulichen:

26. 8. 36. *Hydrocleis nymphoides.* Nach kühler Nacht bei Sonne gegen 11 Uhr aufgeblüht, gegen 12 Uhr abgeschnitten, und von 2 Blüten jeweils ein Blütenblatt in Erlenmeyer-Kölbchen: a) in Luft, b) in H_2. Versuchsbeginn 12^{50} Uhr, $t = 20^0$. Um 19^{45} Uhr zeigte bei a) ein Blatt erste Infiltrationsstellen, das 2. Blatt war weißlich, aber noch intakt. Bei b) war keine Veränderung zu bemerken. Am 27. 8. 8 Uhr waren beide Blätter der Luftkontrolle a) völlig vernichtet. Im Wasserstoff b) war ein Blatt noch völlig frisch und gelb, das 2. Blatt zeigte eine kleine Infiltrationsstelle. Um 10 Uhr zeigten beide Blätter beginnende Infiltrationsstreifen, um 16 Uhr war vom einen Blatt etwa $^1/_4$, vom andern die Hälfte infiltriert. Dann schritt der Vernichtungsprozeß bis zum Abend langsam weiter.

Es war demnach auch der eigentliche, mit der Eiweißspaltung gekoppelte Zusammenbruch verlangsamt. Dennoch scheint der wesentliche Angriffspunkt der Oxydation in den Stunden *vor* der Eiweißhydrolyse zu liegen. Denn eine Verlängerung der Lebensdauer ließ sich nur dann einwandfrei erzielen, wenn die Blütenblätter bald nach dem Aufblühen der Einwirkung des Sauerstoffs entzogen wurden, genau wie dies auch bei der Temperatur- und Blausäurewirkung der Fall war. Daraus scheint hervorzugehen, daß die das Leben begrenzenden, noch vor der Eiweißzertrümmerung in den Blütenblättern ablaufenden Prozesse den Charakter von Oxydationen tragen.

Andere Pflanzen wurden bisher noch nicht untersucht. Ein Versuch mit den gegen Blausäurewirkung so resistenten *Tradescantia*- und

Commelina-Blüten schlug insofern fehl, als diese zarten Blüten offenbar die Evakuierung der Kölbchen nicht ertrugen und in Anaerobiose früher als die Luftkontrollen zugrunde gingen.

V. Die Wirkung einiger anderer Stoffe.

An den Blüten von *Hydrocleis* wurden auch noch einige tastende Versuche mit einer Reihe anderer Stoffe vorgenommen, von denen teils eine Wirkung auf den Eiweißstoffwechsel, teils auch auf andere, hier interessierende Stoffwechselgebiete erwartet werden konnte.

Als zweifellos wirksam erwies sich *Formaldehyd*bedampfung unter der 8-Liter-Glocke aus 2—4%iger Lösung. Hier waren die Blütenblätter am Abend um 19 Uhr, wenn die Luftkontrollen bereits restlos vernichtet waren, noch voll intakt, wenn auch mit etwas weißlicher Farbe. Noch am nächsten Morgen waren merkwürdigerweise Teile des Blattrandes am Leben und mit Glycerin plasmolysierbar, während die sonst später absterbenden zentralen unteren Teile der Blütenblätter zerstört waren. Ähnliche Erfolge waren auch mit 2%iger *Acetaldehyd*lösung zu erzielen. In beiden Fällen trat nur eine Wirkung ein, wenn die Blütenblätter sofort nach dem Aufblühen verwendet wurden.

Dagegen zeigten schwache *Ammoniak*dämpfe aus 0,5—1%igen Lösungen auch noch in relativ späten Abbaustadien eine konservierende Wirkung. Hier konnte sogar noch während der ersten Infiltrationen, also im Stadium des Eiweißabbaus, eingegriffen werden. Die weißliche Verfärbung schlug wieder in das satte Gelb zurück und Randteile der Blütenblätter konnten bis zu 14 Std über die Zeit der Kontrollen hinaus in plasmolysierbarem Zustand erhalten werden. Hierbei genügte eine nur einstündige Einwirkung einer in unmittelbarer Nähe stehenden 1%igen NH_3-Lösung, um noch nach Stunden in freier Luft anhaltende Nachwirkungen zu erzielen.

Anhangsweise mag erwähnt werden, daß vielfache Versuche mit β-Indolylessigsäure erfolglos blieben (s. die Angaben von TSUNG-HSUN HSIANG).

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den in der Literatur vorliegenden und den vorstehend mitgeteilten Ergebnissen ergibt sich nunmehr für das Stoffwechselgeschehen in kurzlebigen Blütenblättern folgendes Bild:

Mit dem Augenblick, wenn sich eine Blüte aus der Knospe entfaltet, scheinen in ihren Gewebezellen grundlegende Umschaltungen einzusetzen. So hat BALL (1933) gefunden, daß in den Blütenblättern von *Turnera ulmifolia* starke Stärkehydrolysen einsetzen, wenn sich die nur wenige Stunden am Leben bleibenden Blütenblätter durch Streckungswachstum entfalten. BANCHER (1938 und 1941) beobachtete bei *Iris*

und *Gladiolus*, daß der osmotische Wert schon in der Knospe kurz vor dem Aufblühen zu sinken begann und daß sich diese Abnahme während der Blütedauer ständig fortsetzte, bis nach Erreichen eines Minimalwertes das Welken begann. Wodurch dieses Sinken des osmotischen Wertes verursacht wurde, ist leider nicht näher erforscht worden. Dagegen hat COMBES (1935, 1936) bei *Lilium croceum* die Beobachtung des Verfassers (1931) über das frühe Einsetzen von Eiweißspaltungen bestätigt und das Abwandern von Stickstoff, Kohlenhydraten und Mineralstoffen quantitativ erfaßt. Seine Ergebnisse stimmen ganz mit den Erfahrungen von PHILLIS und MASON an Baumwollblüten (1936) überein: Bis kurz vor dem Öffnen der Blüten erfolgt eine Stoffeinwanderung, N, P, K, Mg und Kohlenhydrate nehmen zu. Aber mit dem Aufblühen, manchmal schon etwas vorher, hört diese Stoffzufuhr plötzlich auf und kehrt sich nach kürzerer oder längerer Zeit geradezu in das Gegenteil um: Die Stoffe beginnen wieder zurückzuwandern, wobei vor allem nach Beginn des auch äußerlich erkennbaren Welkens sehr rasche Entleerungen des N, P und K, aber anscheinend auch der Kohlenhydrate stattfinden. Auch GESSNER (1948) hat diese zuerst vom Verfasser 1931 am Verhalten des N beobachtete Erscheinung des raschen Rücktransportes beim Welken von Blütenblättern besonders für das Labellum zweier Orchideen bestätigt.

Es ist also kein Zweifel, daß schon mit dem Beginn des Aufblühens das Schicksal der Blütenblätter besiegelt ist und die Prozesse eingeschaltet werden, deren Ablauf nach kürzerer oder längerer Zeit das Leben der Blütenblattzellen begrenzt. Bei langlebigen Orchideenblüten (und ebenso vielleicht bei anderen langlebigen Pflanzen?) scheint diese Umschaltung allerdings erst durch den Reiz der bestäubten Narbe zu erfolgen, da die sonst wochenlang am Leben bleibenden Blüten bekanntlich sofort welken, wenn sie bestäubt werden. Bei der Mehrzahl der näher untersuchten anderen Pflanzen mit begrenzter Blütendauer aber scheint eben der Öffnungsvorgang den Anstoß zu geben. Daß das hierbei einsetzende Streckungswachstum jedoch nicht entscheidend ist, zeigt die Beobachtung, daß auch nicht oder nur halb ausgewachsene Blütenblätter gleichzeitig mit den voll ausgewachsenen welken.

Worin aber besteht diese merkwürdige „Umschaltung?" Es scheint aus den vorstehenden mitgeteilten Befunden klar hervorzugehen, daß die vom Verfasser 1931 gefundenen Eiweißspaltungen keineswegs schon die ersten Glieder der Reaktionskette sind. Zwar haben COMBES und PHILLIS und MASON bei ihren Objekten ähnlich frühzeitig einsetzende Abbauvorgänge am Eiweiß beobachtet wie der Verfasser bei Kakteenblüten, und der Versuch PAECHS (1935), diese Befunde als postmortale Vorgänge zu deuten, trifft wahrscheinlich nur zum Teil das Richtige, selbst wenn die Beobachtungen BANCHERS über das frühzeitige Absterben

vereinzelter Zellen im Blütenblattgewebe verallgemeinert werden dürften. Die vorstehende Untersuchung extrem kurzlebiger Blüten scheint jedoch klarzustellen, daß noch vor dem ja erst kurz vor dem Zusammenbruch einsetzenden Eiweißabbau andere Vorgänge ablaufen, deren Ausmaß in einer merkwürdigen quantitativen Beziehung zur Lebensdauer steht. Es sind in vielen Fällen blausäureempflindliche Oxydationen, bei denen man den Eindruck hat, daß durch sie etwas angegriffen wird, das die Blüte bei ihrer Öffnung nur in einer bestimmten Menge besitzt und auch dann, wenn sie an der Pflanze verbleibt, nicht mehr weiter zugeleitet erhält. Dieses durch eine Oxydation angegriffene Substrat ist sicher nicht Zucker, und die Oxydation daher kaum ein Teilglied des Atmungsstoffwechsels. Kohlenhydrate scheint, wie auch GESSNER erneut fand, die Blüte in einer Menge zu besitzen, daß ihr frühzeitiger Zusammenbruch nicht durch Hunger erklärt werden kann. Viel eher wäre daran zu denken, daß nicht der Substanzverlust, sondern die entstehenden Oxydationsprodukte selbst von einer gewissen Konzentration ab den Anstoß für den weiteren Zusammenbruch des Plasmas geben könnten. Freilich müßte er sich hierbei um ein reines Zellphänomen handeln. Das frühzeitige Abschneiden der Blütenblätter und die dadurch bewirkte Isolierung vor korrelativen Einflüssen hat ja keinerlei Einfluß auf die Lebensdauer, ebenso wenig wie die hierdurch bewirkte Anhäufung eventueller Spaltprodukte und die davon ausgehende Massenwirkung im Sinne der Vorstellungen von PAECH. Auch der Versuch, durch Autolysate aus frisch zusammengefallenen Blütenblättern bei anderen, eben erblühten Blüten eine Verkürzung ihrer Lebensdauer zu erzielen, ist bisher ohne jeden Erfolg geblieben. Dies spricht nicht für das Auftreten diffusibler giftiger Substanzen, so wenig wie die Tatsache, daß ja meist die Blattbasen eine wesentlich längere Lebensdauer besitzen als die Blattränder.

So müssen wir uns zunächst damit begnügen, ein weiteres Teilglied, nämlich die vor der Eiweißspaltung liegenden Oxydationen und den eigenartig quantitativen Charakter derselben, der den Vergleich mit einer angezündeten Kerze, ja mit einer Zündschnur nahelegt, erkannt zu haben.

Was bei diesen ganzen Lebenserscheinungen ephemerer Blüten so fesselt, das ist die Kürze dieses Lebens, die Schnelligkeit der Stoffumsetzungen, kurzum, der Prototypus einer „zum Tode eilenden Entwicklung". Man mag den Charakter dieser Vorgänge, nur durch das Tempo modifiziert, schließlich in jeder Entwicklung finden. Auch Gefäßzellen, Sklerenchymzellen oder Korkzellen differenzieren sich zum Tode. Aber der Kurvenverlauf, der das Leben der zarten Blütenblätter wiedergibt, ist anders, er fällt bereits ab, wenn die Blüte für uns überhaupt erst sichtbar in Erscheinung tritt.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Ephemere Blüten können durch sofort bei ihrer Öffnung einsetzende Kühlung auf $+5^0$ 30—60mal so lange am Leben gehalten werden wie bei normalen Temperaturen. Ihre Lebensdauer verkürzt sich in dem Maße, wie vor dem Einsetzen der Kältewirkung der Aufenthalt bei höheren Temperaturen verlängert wird. Da dieselben Erscheinungen auch bei isolierten Blütenblättern beobachtet werden, deutet dies auf eine quantitative Beziehung zwischen einem bei oder sogar schon vor der Blütenöffnung einsetzenden Prozeß und der möglichen Lebensdauer.

2. Schwache Dosen von Blausäure können bei manchen ephemeren Blüten die Lebensdauer bis über das Fünffache verlängern, sofern auch hier die Einwirkung schon bei Beginn der Blütenöffnung angesetzt wird. Da auch Sauerstoffentzug einen ähnlichen Effekt erzielt, handelt es sich offenbar um die Behinderung oxydativer Prozesse, die mit der Blütenöffnung einsetzen und deren weitere Wirkung nach einer gewissen Zeit nicht mehr rückgängig gemacht werden kann.

3. Es laufen daher noch *vor* der früher vom Verfasser gefundenen Eiweißspaltung oxydative Prozesse in den Blütenblättern ab, die jedoch allem Anschein nach nichts mit einer Veratmung der Kohlenhydrate zu tun haben, in ihrer quantitativen Begrenzung aber typisch für solche rasch dem Tode zueilenden Entwicklungsabläufe zu sein scheinen.

Literatur.

Ball, N.: A physiologial investigation of the ephemeral flowers of Turnera ulmifolia. New Phytologist **32**, 13 (1933). — Bancher: Zellphysiologische Untersuchungen über den Abblühvorgang bei Iris und Gladiolus. Österr. bot. Z. **87**, 221 (1938). — Zellphysiologische Beobachtungen an Iris Reichenbachii während des Abblühens. Österr. bot. Z. **90**, 97 (1941). — Combes, R.: Étude biochimique de la fleur. 1. La nutrition minérale de la fleur. C. r. Acad. Sci. Paris **200**, 578 (1935). 2. La nutrition azotée de la fleur. C. r. Acad. Sci. Paris **200**, 1970 (1935). 3. La nutrition glucidique de la fleur. C. r. Acad. Sci. Paris **203**, 1282 (1936). — Gessner: Stoffwanderungen in bestäubten Orchideenblüten. Biol. Zbl. **67**, 457 (1948). — James and Beevers: The respiration of Arumspadix. A rapid respiration, resistant to cyanide. New Phytologist **49**, 353 (1950). — Paech: Über die Regulation des Eiweißumsatzes und über den Zustand der proteolytischen Fermente in den Pflanzen. Planta (Berl.) **24**, 78 (1935). — Phillis and Mason: Further studies on transport in the Cotton plant. VI. Interchange between the tissues of the corolla. Ann. of Bot. **50**, 679 (1936). — Schumacher: Über Eiweißumsetzungen in Blütenblättern. Jb. wiss. Bot. **75**, 581 (1931). — Tsung-Hsun T. Hsiang: Physiological and biochemical changes accompanying pollination in Orchid flowers. I. General observations and water relations. Plant Physiol. **26**, 441 (1951).

Prof. Dr. Walter Schumacher, Botan. Inst. d. Univ. Bonn.

Planta, Bd. 42, S. 56—63 (1953).

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen).

ÜBER GEWISSE NOCH NICHT IDENTIFIZIERTE INHALTSSTOFFE HÖHERER PFLANZEN *.

(Vorläufige Mitteilung).

Von

K. PAECH.

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 27. April 1953.)

Auf der Suche nach den Vorstufen der Biosynthese von Anthocyanidinen und anderen Flavanderivaten war zu prüfen, ob nicht allein die Zuführung eines aus chemischen Überlegungen in Betracht zu ziehenden Bausteines zu den anthocyanbildenden Pflanzenteilen die Farbstoffsynthese vollenden könnte, wenn nämlich eine andere Komponente schon in den Zellen vorgebildet war. Anhaltspunkte für die Beteiligung von 2 wesentlich verschiedenen Bruchstücken oder Teilvorgängen bei der Anthocyanbildung sind mehrfach gefunden worden (z. B. KARSTENS; vgl. auch PAECH, S. 195). Phloroglucin, das zwar bei weitem nicht so häufig in freier Form in Pflanzen vorkommt, wie bisher behauptet wurde (eigene unveröffentlichte Untersuchungen), könnte trotzdem eine für die Anthocyansynthese unerläßliche Komponente sein, wenn es nämlich stets in statu nascendi in den Aufbau einbezogen wird. Über das Schicksal von Phloroglucin, das lebenden Pflanzenteilen zugeführt manchmal in beträchtlichen Mengen umgesetzt werden kann, soll an anderer Stelle berichtet werden.

Auf überraschend einfache Weise gelingt es, in *wäßrigen Extrakten* aus den Blättern verschiedener Pflanzenarten durch Zufügung von geringen Phloroglucinkonzentrationen und nach schwachem Ansäuern mit Mineralsäuren in kurzer Zeit einen purpurroten Farbstoff entstehen zu lassen, der auf den ersten Blick große Ähnlichkeit mit einem natürlichen Anthocyan hat. Da dieser „Farbstoff", wie er hier einfach genannt werden soll, aber einige für Anthocyane charakteristische Reaktionen nicht gibt, soll der Gedanke, durch ihn eine natürliche Vorstufe der Anthocyane erfaßt zu haben, zunächst zurückgestellt werden. Die genuine „Substanz", durch deren Kondensation mit Phloroglucin sich der Farbstoff bildet, hat jedoch so bemerkenswerte Eigenschaften, daß eine kurze Mitteilung über die bisherigen Erfahrungen mit ihr nicht unangebracht erscheinen mag, auch wenn die Ermittlung ihrer chemischen Konstitution noch nicht gelungen ist. Manches spricht dafür, daß die unbekannte Substanz oder die Substanzen, mit denen wir es hier

* Meinem hochverehrten Lehrer, Prof. Dr. Dr. h. c. W. RUHLAND, zum 75. Geburtstag gewidmet.

zu tun haben, zu der Gruppe von eigenartigen, unstabilen Glykosiden gehören, über die TRIM und HILL sowie TRIM jüngst berichtet haben.

Die Nachweisreaktion. Frische grüne Blätter (anthocyanhaltige siehe unten) werden nach Zufügen von einigen Tropfen Chloroform oder Toluol zur raschen Abtötung der Zellen in einem Mörser mit der gleichen Gewichtsmenge Wasser fein zerrieben. Danach wird nochmals die gleiche Menge Wasser zugegeben, verrührt und nach kurzem Stehenlassen über ein Kieselguhrfilter (Schleicher & Schüll Nr. 287) abgesaugt. Bei den meisten Blättern erhält man auf diese Weise ein klares Filtrat. Ist der Brei so schleimig, daß das Filtrieren gar nicht oder zu langsam möglich wäre, so verhilft manchmal eine Extraktion mit 50% Alkohol oder 5% Essigsäure an Stelle von Wasser zu einem Filtrat, mit dem die Probe auf die Anwesenheit der gesuchten Substanz angestellt werden kann.

5—10 cm^3 des Filtrates werden mit 1 cm^3 einer 1%igen Phloroglucinlösung und mit soviel konzentrierter Salzsäure versetzt, daß das Gemisch am Ende 1% HCl enthält. Eine Hälfte dieses Ansatzes wird bei Zimmertemperatur und die andere im Kühlschrank aufbewahrt. Nur bei den Blättern, die Anthocyan enthielten, z. B. bei gewissen Rassen von Garten-*Cyclamen*, tritt unmittelbar nach dem Zusatz von Säure schon eine Rötung des Extraktes auf. Wenn nur die unbekannte „Substanz" vorhanden ist, beginnt sich langsam, manchmal nach 5 min, meist aber erst viel später, eine purpurrote Färbung zu entwickeln.

Pyrogallol, Resorcin, Hydrochinon oder Vanillin an Stelle des Phloroglucins verwendet geben unter den beschriebenen Bedingungen keinerlei Farbe. Mit Brenzkatechin entstand bei Extrakten aus *Saxifraga crassifolia* ein schwacher rötlicher Schein. Ansäuern mit 10% Essigsäure oder 1% Oxalsäure an Stelle von Salzsäure läßt den Farbstoff nicht entstehen. Hingegen ist 1% Schwefelsäure oder 1% Phosphorsäure ebenso wirksam wie Salzsäure. Obwohl die Reaktion recht langsam eintritt, kann es sich kaum um einen enzymatischen Vorgang handeln, der ja bei der Acidität von 1% Mineralsäure recht unwahrscheinlich ist.

Licht und Dunkelheit sind ohne Einfluß auf die Farbstoffbildung.

Die Eigenschaften des „Farbstoffes". Es muß noch dahingestellt bleiben, ob unter den angegebenen Bedingungen wirklich immer der gleiche Farbstoff entsteht. Manchmal schien er eine mehr violette Nuance zu haben. z. B. bei *Viburnum tomentosum* und *Parthenocissus quinquefolia*. Der Farbstoff läßt sich aus der sauren Lösung, in der er entsteht, mit Amyl- oder Butylalkohol ausschütteln. Bei stärkeren Konzentrationen des Farbstoffes, z. B. in Extrakten von *Saxifraga crassifolia* oder *Parthenocissus*, muß mehrmals frischer Alkohol verwendet werden, um den Farbstoff restlos aus der wäßrigen Lösung zu entfernen. Sein Absorptionsspektrum ist in Abb. 1 nach Bestimmungen mit dem Pulfrich-Photometer dargestellt.

Durch Sodalösung alkalisch gemacht wird der Farbstoff sowohl in wäßriger Lösung als auch in Amylalkohol entfärbt. Bei erneutem Ansäuern kehrt die rote Farbe zurück. Ein blauer Farbton ist weder in neutraler Lösung noch bei vorsichtiger tropfenweiser Zugabe von Sodalösung erhalten worden. Mit $FeCl_3$ schlägt die Farbe in Olivgrün um. Der Farbstoff aus *Saxifraga*-Extrakten wurde im Papierchromatogramm mit Butanol : Essigsäure : Wasser (4:1:5) auf Whatman Nr. 1 bei 20° abgetrennt und läuft mit einem R_f-Wert 0,78—0,82. Er fluoresziert im UV braunrot, mit NH_3 behandelt glühend rot.

Eine sehr merkwürdige Beziehung besteht zwischen Temperatur und Farbstoffbildung, besonders ausgeprägt bei Extrakten aus Blättern von *Saxifraga crassifolia*. Nach 24 Std Aufbewahrung des frisch gemischten Ansatzes bei den betreffenden Temperaturen ergaben sich folgende Veränderungen: +3° C kräftig rot, 17° rötlicher Schein, 24° gelblich, 30° gelblich. Die Farbstoffbildung ist in diesem Falle also nur bei tiefen Temperaturen möglich. Die bei höheren Temperaturen nicht ausgefärbten Portionen werden bei anschließendem Aufenthalt im Kühlschrank nicht mehr rot. Die für die Farbstoffbildung verantwortliche genuine Substanz ist also durch Stehen in saurer Lösung (1% HCl) bei Zimmertemperatur zerstört bzw. entwertet worden. Die auffällige inverse Abhängigkeit der Ausfärbung von der Temperatur muß so gedeutet werden, daß bei niederer Temperatur die „Zerstörung" der Substanz viel langsamer vor sich geht als ihre Kondensation mit Phloroglucin zum Farbstoff, während bei höherer Temperatur die wahrscheinlich hydrolytische Entwertung mit so hoher Geschwindigkeit abläuft, daß keine Farbstoffbildung stattfinden kann. Wir denken dabei, daß zur Kondensation mit Phloroglucin in der genuinen Substanz eine labile energiereiche Bindung vorhanden sein muß, die z. B. als Glykosidbindung gegeben sein kann. Obwohl es sich bei der vorliegenden Umsetzung *nicht* um einen enzymatischen Prozeß handelt, so gibt diese Reaktion, an der ein genuiner Pflanzenstoff beteiligt ist, doch eine recht anschauliche Vorstellung von denjenigen Stoffwechselvorgängen, die, z. B. bei der Vernalisation, nur bei tiefer Temperatur ablaufen, aber bei höherer unterdrückt sind.

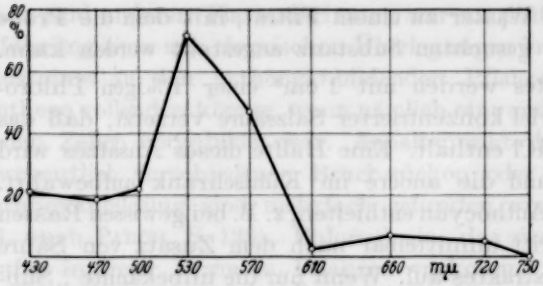


Abb. 1. Absorptionsspektrum des aus *Saxifraga*-Blättern hergestellten Farbstoffes (gelöst in Amylalkohol). Ordinate: % Absorption.

Das Ausbleiben der Farbstoffbildung bei Zimmertemperatur, das wir bei *Saxifraga*-Extrakten, dem ersten genauer untersuchten Objekt,

regelmäßig fanden, hatte uns veranlaßt, unsere Ansätze auch mit anderen Arten nur bei tiefen Temperaturen aufzubewahren, bis wir später bemerkten, daß bei Extrakten aus anderen Pflanzen die Reaktion auch bei Zimmertemperatur eintritt, wenn auch weniger intensiv (*Parthenocissus*) und daß bei wieder anderen Arten praktisch kein Unterschied im Grad der Farbbildung bei Zimmertemperatur und im Kühlschrank besteht (z. B. bei *Cyclamen*). Das unterschiedliche Verhalten der „Substanz" aus verschiedenen natürlichen Quellen bedeutet vielleicht, daß es sich bei Annahme eines Glykosides in allen Fällen zwar um das gleiche für die Farbbildung entscheidende Aglykon handelt, daß aber verschiedene Zucker beteiligt sein können, die eine verschieden rasche Hydrolyse der Glykoside bedingen.

Eigenschaften der „Substanz". Die Bildung eines roten bis rotvioletten Farbstoffes mit Phloroglucin in salzsaurer Lösung läßt natürlich die Vermutung aufkommen, daß die Umsetzung etwas mit der bekannten Phloroglucin-Salzsäurereaktion auf Verholzung zu tun haben könnte, obwohl jene nur in sehr verdünnter Säure eintritt und durch höhere Säurekonzentrationen verhindert wird, während diese gerade starke Säure als Bedingung verlangt. Modellversuche mit reinem Vanillin + Phloroglucin in 1% Salzsäure gaben keine Farbbildung. Ein Versuch mit Coniferylalkohol ist aus Mangel an reiner Substanz noch nicht gemacht worden. Äußerlich ähnlich wie mit der genuinen „Substanz" verläuft die Reaktion mit p-Dimethylaminobenzaldehyd, dem bekannten Reagens auf Phloroglucin; aber der entstehende Farbstoff läßt sich mit Amylalkohol nicht aus der wäßrigen Lösung ausschütteln. Da Phloroglucin in saurem Medium mit recht verschiedenartigen Verbindungen gefärbte Komplexe gibt (vgl. Trim und Hill), dürfte es kaum möglich sein, aus der Farbstoffbildung und den Eigenschaften des Farbstoffes allein Rückschlüsse auf die Art der vorliegenden Substanzen zu ziehen.

Die oben beschriebene Nachweisreaktion fiel mit den Extrakten aus Laubblättern der folgenden Arten positiv aus (nach abnehmender Intensität geordnet): *Parthenocissus vitacea*, *Parthenocissus quinquefolia* (erst ab Juli!), *Saxifraga crassifolia* (im Sommer), *Vitis vinifera*, *Cyclamen*-Gartenform, *Viburnum tomentosum*, *Corylus avellana* (Blutvarietät), *Fuchsia*, *Tradescantia zebrina* (junge grüne Blätter), *Populus nigra* und *Quercus cerris* (beide nur im Herbst). Negativ fiel die Reaktion auch in der Kälte bei folgenden Arten aus: *Convallaria majalis*, *Iris germanica*, *Phaseolus vulgaris*, *Papaver Rhoeas*, *Linaria cymbalaria*, *Urtica dioica*, *Lavandula off.*, *Helianthus annuus*, *Chrysanthemum hybr.*, *Primula obconica*, *Acer pseudoplatanus*, *Tilia platyphyllos*, *Fagus silvatica*, *Carpinus betulus*, *Aucuba japonica*. Die „Substanz" ist also weder sehr selten noch universell verbreitet. Bei einem ersten Blick auf die geprüften Arten scheint der Schluß gerechtfertigt, daß im allgemeinen nur in den Arten, deren Blätter in einem Entwicklungsstadium, meist

beim Altern, Anthocyan zu bilden vermögen, die Reaktion positiv ausfällt. Einige zusätzliche Beobachtungen können diese Vorstellung stützen bzw. erweitern. Bei *Saxifraga crassifolia*, mit der wir uns anfangs eingehender beschäftigten, enthalten die sommerlich grünen Blätter sowohl in den belichteten als auch in den beschatteten Teilen stets reichlich von der „Substanz". Im Oktober, als die meisten Blätter, vor allem die belichteten, auf der Unterseite durch Anthocyan gerötet waren, gaben einige aus unbekannten Gründen grün gebliebene Blätter nur noch die Spur einer Farbstoffbildung bei der oben beschriebenen Aufarbeitung. *Saxifraga*-Blätter, die unter Anthocyanbildung den Winter überdauert hatten, gaben im Frühjahr keinen Farbstoff mehr. (Bestimmung des Farbstoffes bei Anwesenheit von Anthocyan s. unten.) Brombeerblätter, die sowohl im Mai als auch im Oktober negativ reagierten, schienen der einzige untersuchte Blattyp zu sein, der zwar später Anthocyan zu bilden vermag, aber doch vorher die „Substanz" nicht enthält. Im Laufe des Winters stellte sich jedoch heraus, daß die Brombeerrasse, deren Blätter untersucht worden waren, gar kein Anthocyan bildet, wie es in vielen Brombeerblättern in der kalten Jahreszeit auftritt. Die Blätter von *Parthenocissus quinquefolia* gaben am 8. April völlig negative Reaktion, aber am 21. Juli war in ihnen reichlich „Substanz" nachweisbar. Ebenso fiel die Reaktion bei Blättern von *Populus nigra* und *Quercus cerris* Anfang Mai negativ aus, während grüne Blätter beider Bäume am 20. Oktober reichlich farbstoffbildende Substanz enthielten. In diesen Blättern tritt im Herbst zwar kein Anthocyan auf, aber sie bilden große Mengen anderer Flavanderivate (Flavone und Katechine). Besonders zu erwähnen ist der negative Ausfall des Nachweises bei *Linaria cymbalaria* und *Aucuba japonica*, weil damit gezeigt ist, daß es sich bei der von uns verfolgten Substanz nicht um die von Trim und Hill studierten Glykoside Aucubin und Asperulosid handeln kann. Die Extrakte von *Aucuba japonica* geben mit unserem Nachweis einen olivgrünen Farbstoff, der sich mit Amylalkohol ausschütteln läßt. Die gleiche Farbe erhielten wir mit einer Probe von reinem Aucubin, das uns dankenswerterweise von Dr. A. R. Trim, Cambridge, zusammen mit einer Probe reinen Asperulosids gesandt wurde. Reines Asperulosid gibt bei unserem Nachweis gar keine Farbe.

Die durch die Farbbildung nachweisbare genuine Substanz muß ungewöhnlich labil sein. Werden die Blätter (*Saxifraga*, *Parthenocissus*, *Cyclamen*) bei 50° C über Nacht getrocknet, so ist die Substanz völlig verschwunden, d. h. im Ansatz wird kein Farbstoff mehr gebildet. Die Aufbewahrung eines mit 1% HCl angesäuerten Extraktes bei Zimmertemperatur über Nacht vernichtet ebenfalls die Fähigkeit, mit Phloroglucin den Farbstoff zu bilden. In einer Lösung mit 5—10% Essigsäure ist die genuine Substanz hingegen recht gut haltbar. Ihre wesentlichen

Eigenschaften bleiben 24 Std lang sowohl im Kühlschrank als auch bei Zimmertemperatur erhalten. Erhitzen von Blattextrakt mit 1% Salzsäure oder 1% Salzsäure + 0,1% Phloroglucin im kochenden Wasserbad für 15 min ergibt weder bei noch nach dem Erwärmen eine Färbung. Die genuine Substanz wird dabei zerstört. In 1% Sodalösung wird bei Zimmertemperatur in wenigen Minuten die Fähigkeit zur Farbstoffbildung vernichtet.

Auch im lebenden Blatt wird die Substanz umgesetzt bzw. abgebaut. Beim Verdunkeln der Blätter von *Vitis vinifera* ist nach 2 Tagen noch kein merklicher Schwund, nach 7 Tagen jedoch vollständiger Verlust der Substanz bzw. ihrer farbstoffbildenden Eigenschaft eingetreten. Die Bestimmung ist quantitativ möglich. Mit Extrakten aus Blatthälften von *Cyclamen* wird auf gleiche Mengen Frischgewicht bezogen die gleiche Farbintensität (gemessen im Pulfrich-Photometer) erhalten. Verdünnung der Blattextrakte vor dem Ansetzen mit HCl und Phloroglucin ergibt eine der Verdünnung entsprechend geringere Farbintensität. Auf diese Weise ist es also möglich, den Umsatz eines Pflanzenstoffes in relativen Mengen zu verfolgen, obwohl dieser Stoff selbst noch nicht identifiziert ist. Im Prinzip gilt Ähnliches ja auch für die genuinen Azulenbildner. Die in den Pflanzen vorhandene Substanz ist nicht bekannt. Erst durch Destillation entsteht ein „Blauöl", das als Maß für die genuine Verbindung genommen wird. Vielleicht besteht sogar eine tiefer reichende Analogie zwischen der Farbstoffbildung nach Zugabe von HCl und Phloroglucin zu den Blattextrakten und der Entstehung von Azulenen bei der Destillation von Pflanzenteilen, indem in beiden Fällen eine labile genuine Verbindung durch Kondensation einen stabilen Farbstoff ergibt.

Der Isolierung und Identifizierung der Substanz steht als größtes Hindernis ihre außergewöhnliche Labilität im Wege. Zur Reindarstellung wurden bisher folgende Wege beschritten. Die Substanz läßt sich aus der sauren wäßrigen Lösung durch Ausschütteln mit wenig Äthylacetat (Essigsäureäthylester) abtrennen. Auch Butylalkohol nimmt sie mit hohem Verteilungsquotienten auf (s. unten R_f-Wert). Eine weitere Anreicherung läßt sich noch durch Einengen der Lösung in Äthylacetat erzielen. Bei stärkerer Konzentrierung von Extrakten aus *Parthenocissus* schied sich ein gelbliches harziges Öl ab und die farbbildende Eigenschaft verschwand.

Mit der von Trim und Hill empfohlenen Isolierungsmethode für Glykoside läßt sich die Substanz zwar aus dem Rohextrakt abtrennen aber nicht rein darstellen. Nach Ausschütteln des Extraktes mit Carbo medicinalis (Merck) und Auswaschen der Kohle mit destilliertem Wasser wird mit 50, 70 oder 90% Äthylalkohol eluiert. Das Einengen der alkoholischen Eluate im Vakuum bei 30—35° C führt zunächst zwar

zu einer Konzentrierung der Substanz. Die Adsorption an Kohle wurde noch ein 2. Mal durchgeführt. Mit solchen gereinigten Extrakten tritt die Farbbildung viel rascher ein als mit Rohextrakten. Beim weiteren Einengen der alkoholischen Lösung verändert sich die Substanz so, daß die Fähigkeit zur Farbstoffbildung verlorengeht. Beim Verdünnen der konzentrierten Extrakte aus *Cyclamen* fällt ein hellgrau gefärbter, schwammiger Niederschlag aus, der offenbar durch „Verharzung" der genuinen Substanz entstanden ist. Sie läßt sich sonach nicht unverändert abscheiden.

Nach Adsorption an Kohle und Eluierung läßt sich die Substanz auch in Blättern nachweisen, die Anthocyan enthalten und in deren Extrakten, die schon gefärbt sind, ehe sie mit Phloroglucin und Salzsäure versetzt werden, ein Nachweis der Farbbildung nur durch Zunahme der Extinktion bei 530 mμ möglich wäre. Bei der Eluierung mit wäßrigem Alkohol bleiben die Anthocyanpigmente an der Kohle haften, so daß in den farblosen Eluaten ohne Überdeckung durch andere Pigmente die Farbstoffbildung verfolgt werden kann.

Im Papierchromatogramm (Butanol : Essigsäure : Wasser 4:1:5 auf Whatman-Papier Nr. 1) läßt sich aus verdünnten durch Kohleadsorption vorgereinigten Lösungen die Substanz abtrennen. Sie hat bei 20° C einen R_f-Wert von 0,98—0,91 und läßt sich an dieser Stelle durch Besprühen des Papiers mit einer wäßrigen Lösung von 0,1% Phloroglucin in 1% HCl und Aufhängen des Papiers in einer feuchten Kammer als roter Fleck nachweisen, der in etwa 15 min entsteht.

Nach Abtrennen auf dem Papier ist die reine Substanz relativ stabil. Wenn das Papier bei 60° C 2 Std getrocknet und über Nacht im Zimmer aufbewahrt wird, bleibt die Fähigkeit zur Farbstoffbildung unverändert erhalten. Die Substanz kann vom Papier durch 96%igen Alkohol leicht abgewaschen werden. Aus dieser alkoholischen Lösung, in der die Substanz rein vorliegen dürfte, wenn nicht noch andere Verbindungen, die mit dem gleichen R_f-Wert unter den angegebenen Bedingungen laufen, vorhanden sind, scheiden sich beim Einengen auch nur ölige Tropfen ab, die keine Farbreaktion geben.

Als nächste Frage soll geprüft werden, ob es sich tatsächlich um ein Glykosid handelt, wofür manche Anzeichen sprechen, und welche Zucker beteiligt sind. Sollte sich die Vermutung bestätigen, so würde das die Feststellung von Trim und Hill stützen: "If the 'aucubin type' of glycosides can be accepted, it is clear that the group is of very wide distribution, and must therefore respresent a fairly common feature of plant metabolism."

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß in den Blättern von Pflanzen der verschiedensten systematischen Zugehörigkeit Verbindungen vorkommen, die sich durch ihre Kondensation mit Phloro-

glucin zu einem purpurroten Farbstoff nachweisen lassen. Die Voraussetzung für diese Reaktion scheint eine labile, energiereiche Bindung zu sein, die ähnlich wie bei den physiologischen Gruppenübertragungen auf das Phloroglucin übertragen werden kann. Bei hydrolytischer Spaltung dieser Bindung entsteht eine für diese Reaktion inaktive Substanz. In höheren Konzentrationen lagert sich die zunächst echt gelöste Verbindung zu Polymeren zusammen, die unlöslich sind und die Fähigkeit, mit Phloroglucin zu kondensieren, verloren haben. Die chemische Struktur der genuinen Substanz ist noch ungeklärt. Es wird vermutet, daß die labile Bindung eine glykosidische ist. Physiologisch erhebt sich die Frage, ob diese labile Bindung auch im Stoffwechsel übertragbar ist und ob damit das vermutete Aglykon als Komponente für physiologische Kondensation in Betracht kommt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich aufrichtig für die Unterstützung durch Sachbeihilfen.

Literatur.

Karstens, W. K. H.: Rec. Trav. bot. néerl. **36**, 85 (1939). — Paech, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1950. — Trim, A. R.: Biochemic. J. **50**, 319 (1951). — Trim, A. R. and R. Hill: Biochemic. J. **50**, 310 (1951).

Prof. Dr. K. Paech, Tübingen, Wilhelmstraße 5.

Planta, Bd. 42, S. 64—80 (1953).

Aus dem Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben.

EIN BEITRAG ZUR ASSIMILATION N-HALTIGER VERBINDUNGEN DURCH BÄCKERHEFE*.

Von

K. MOTHES.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Juni 1953.)

Obwohl die Hefen zu den bestuntersuchten Pflanzen gehören und obwohl ihre Bedeutung für die industrielle Eiweißproduktion auch Anlaß gegeben hat, ihren Stickstoff-Stoffwechsel eingehend zu studieren, bestehen über die Voraussetzungen der Eiweißsynthese in der Literatur auffällige Widersprüche, die auf die großen physiologischen Unterschiede der nur morphologisch ähnlichen „Hefen" und auf die Rolle äußerer Bedingungen hinweisen. Zu diesen äußeren Bedingungen gehören neben der häufig untersuchten Belüftung vor allem die N-Quellen selbst und „Wachstumsfaktoren". Denn die Eiweißsynthese ist bei diesen Mikroorganismus in viel stärkerem Maße an das Wachstum gebunden als bei höheren Pflanzen. In einer ausgewachsenen Hefezelle läßt sich der Eiweißgehalt nur in bescheidenem Maße variieren (etwa um 100%). Darüber hinaus gibt es unter den „Wachstumsfaktoren" solche, die unmittelbar in den N-Stoffwechsel eingreifen, und es liegt nahe, zu vermuten, daß die großen Unterschiede in der Eiweißsynthese bei so extrem und verschiedenartig heterotrophen Organismen, wie wir sie unter den „Hefen" finden, auch auf dem Mangel solcher Katalysatoren beruhen können.

Wir haben uns eingehender mit der Eiweißsynthese der „Bäckerhefe" befaßt. Die hier mitgeteilten Untersuchungen sind bereits 1942—1944 am Botanischen Institut der Universität Königsberg durchgeführt worden. Sie betreffen in erster Linie die Rolle der Aminosäuren als N-Quellen. Es interessiert bei dieser Arbeit weniger die mögliche Eiweißausbeute als die Geschwindigkeit der N-Assimilation.

Seit unseren Untersuchungen, an deren Veröffentlichung wir erst jetzt nach Wiedererhalt unserer Tagebücher denken konnten, sind eine Reihe wertvoller Arbeiten aus anderen Laboratorien über ähnliche Gegenstände erschienen (vgl. BARTON-WEIGHT, FINK, SCHULTZ, THORNE u. a.). Diese haben aber meist Versuche zum Grunde, die sich in den Voraussetzungen von den unseren unterscheiden, ganz besonders in bezug auf die Vitaminversorgung und das Wachstum der Hefe. Wir haben

* Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. W. RUHLAND, zur 75. Wiederkehr seines Geburtstages in Dankbarkeit gewidmet.

uns deshalb entschlossen, Ausschnitte aus unserer Arbeit hiermit bekanntzugeben.

Bei diesen Versuchen waren die technischen Assistentinnen Frau TRAPP-ROSINSKI, Fräulein L. GRÄF und Frau GÖRLICH-HEINE beteiligt. Ihnen sei an dieser Stelle besonders gedankt, wie auch der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, die für die Finanzierung der Arbeiten sorgte.

Material und Methode.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit „Tilsiter Bäckerhefe" angestellt. Es dürfte kaum eine völlig einheitliche Bäckerhefe geben. Wir haben aber durch mehrjährige Erfahrung den Eindruck gewonnen, daß unsere „Hefe" sich durch große Reinheit und Sortengleichheit auszeichnet. Wir haben mit voller Absicht mit größeren Mengen von Hefe und in kurzfristigen Experimenten gearbeitet, um den Wachstumsfaktor weitgehend auszuschließen. Solche Versuchsanstellung erforderte einen Verzicht auf Reinkulturen. Dafür wurde jedes Experiment mehrfach wiederholt, was im einzelnen nicht besonders vermerkt wird. Auch haben wir durch mikroskopische Kontrolle die Mitwirkung größerer Bakterienmassen oder anderer „Hefen" auszuschließen uns bemüht, wofür es natürlich beim Arbeiten mit Preßhefen keine absolute Sicherung gibt.

Die stets frisch gelieferte Hefe wurde fein aufgeschwemmt und mehrmals gründlich gewaschen. Die erst dann durchgeführte mikroskopische Kontrolle erstreckte sich nicht allein auf morphologische Elemente, sondern auch auf mit Methylenblau anfärbbare Hefezellen. Es ist uns bekannt, daß dieser Test nicht gestattet, lebende von toten Zellen eindeutig zu unterscheiden, doch gibt er Anhaltspunkte zur Beurteilung der Einheitlichkeit des Materials und seiner Aktivität (vgl. FINK 1930, HAEHN und GLAUBITZ 1929).

Die Versuche wurden in dem Belüftungsapparat von KLUYVER durchgeführt (Schott-Katalog Nr. 87 G 3).

Der Normalansatz enthielt in 1000 ml: 30 g Frischhefe, 5 g KH_2PO_4, 5 g $(NH_4)_2HPO_4$, 0,4 g $CaCl_2$, 0,4 g $MgSO_4$, 20 g Rohrzucker und wurde durch H_3PO_4 auf p_H 4,5—4,7 gebracht, sofern nicht anderes vermerkt ist. Eine solche Suspension zählt in 1 mm^3 3—3,5 · 100000 Hefezellen.

Hungerhefe wurde durch 12 Std lange Vorbehandlung bei starker Belüftung ohne Zucker und ohne NH_4 in obiger Lösung gewonnen.

Glykogenreiche Hefe wurde durch 12 Std lange starke Belüftung in obiger Lösung bei Abwesenheit von gebundenem Stickstoff erhalten. Das Trockengewicht der Hefe kann auf solche Weise um etwa 100% erhöht werden bei nur sehr bescheidener Zellvermehrung.

Alle Berechnungen werden auf 500 ml Ansatz durchgeführt. Das bedeutet, daß in einem Normalansatz 150—175 · 10^9* Hefezellen vor-

* Die Zellenzahlenangaben in den Tabellen sind immer mit 10^9 zu multiplizieren.

Tabelle. 1. *Einfluß der Belüftung auf die Geschwindigkeit der NH_3-Assimilation.* Normalansatz, jedoch 415 mg NH_3-N und 25 g Rohrzucker je 500 ml (Temperatur 22° C).

Nr.			Nach Stunden										
			Sofort	2	3	4	5	6	7	8	9	10	24
1	Luft: 1 Liter/min	NH_3-N	415	320	263	182	138	76	51	20	4	0	0
		p_H	4,86	4,52	4,36	4,04	3,56	3,32	2,98	2,88	3,00	2,95	3,02
2	H_2: 1 Liter/min	NH_3-N	415	355	322	270	243	212	200	198	204	204	207
		p_H	4,86	4,63	4,54	4,32	4,20	4,10	4,02	3,88	3,74	4,02	4,00
3	Luft: 5 Liter/min nicht geschüttelt	NH_3-N	415	320	280	222	174	158	142	112	94	81	10
4	Luft: 5 Liter/min geschüttelt	NH_3-N	415	319	282	196	158	89	64	32	14	10	0
5	wie 4, aber Luft mit 2% CO_2	NH_3-N	415	321	259	186	142	70	46	22	7	0	0

handen sind mit einem Trockengewicht von etwa 3—4 g und einem Gehalt an Eiweißstickstoff von 200—300 mg. In einem solchen Ansatz befinden sich rund 515 mg NH_3-Stickstoff, etwas weniger als der Theorie entspricht.

Zur Analyse wurde die Hefesuspension mit 20% Trichloressigsäure gefällt und nach einiger Zeit zentrifugiert. Der Niederschlag wurde mit 0,5% Trichloressigsäure nachgewaschen. Durch Zerstörung nach KJELDAHL ergaben sich aus Niederschlag und der klaren Lösung Eiweiß-N und löslicher N; die Summe beider stellt den Gesamt-N dar.

In der löslichen Fraktion wird durch direkte Vakuumdestillation nach Alkalisierung auf p_H 8,5 (Borat-Puffer) der NH_3-N erhalten, nach Hydrolyse in 5% H_2SO_4 der Amid-N nach SACHSSE und nach Zerstörung mit Nitrit der α-Aminosäuren-N nach VAN SLYKE.

Die Bedeutung der Belüftung für die Eiweißsynthese aus NH_3.

Über den Einfluß der Sauerstoffzufuhr zu einer eiweißbildenden Hefesuspension ist vor allem von FINK und Mitarbeitern vielfach veröffentlicht worden (s. FINN und ROSS 1952, SINGH, AGARWAL, PETERSON 1948). Unsere Versuche hatten in erster Linie orientierenden Charakter, um die optimalen Bedingungen für unsere apparative Anordnung zu erfassen. Dabei ist die feine Verteilung des zugeleiteten Gases durch das Glasfilter G3 von besonderer Bedeutung. Eine Belüftung mit etwa 0,5 bis

1 Liter/min auf einen Ansatz von 250 ml läßt bereits eine maximale Geschwindigkeit der NH_3-Assimilation zu (Tabelle 1, Abb. 1). Wird die Luft durch reinen Sauerstoff ersetzt, so wird die NH_3-Assimilation bei dieser Begasungsgeschwindigkeit nicht beschleunigt. Eine Belüftung mit 5 Liter/min drückt die NH_3-Assimilation ein wenig (Abb. 2, Tabellen 1—3). Das dürfte zweierlei Ursachen haben. Die eine liegt in der stärkeren

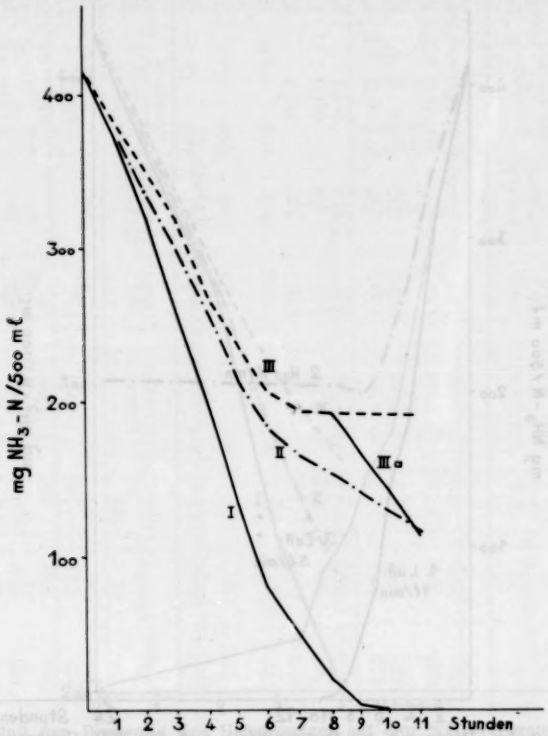


Abb. 1. Einfluß der Begasung des Hefeansatzes auf den NH_3-Verbrauch. (415 mg NH_3-N und 25 g Zucker in 500 ml, 19° C.) I 1 Liter Luft/min; II $^1/_{20}$ Liter Luft/min; III 1 Liter H_2/min; IIIa wie III, nach der 8. Std jedoch Luft wie bei I.

Schaumbildung, die eine gewisse Entmischung der Suspension bedingt, wobei relativ große Mengen von Hefezellen der ständigen Umspülung durch Nährlösung entzogen werden. Diese Störung kann man zum Teil durch gleichzeitiges Schütteln der Belüftungsgefäße beseitigen (Tabelle 1, Nr. 4). Eine zweite, bedeutsamere Ursache liegt in dem Ausblasen der durch die Hefe selbst gebildeten CO_2. Durchlüftet man mit einem Gemisch von 98% Luft und 2% CO_2 (Tabelle 1, Nr. 5), so erreicht man bei starker Begasung (5 Liter/min) und Schütteln die völlige Beseitigung der Störung. Wird die Hefesuspension mit reinem, O_2-freiem N_2 begast, verläuft die NH_3-Assimilation wie bei Verwendung von H_2. Wird gewöhnlicher Bombenstickstoff benutzt, der 1—3% O_2 enthält, so steigt

die Geschwindigkeit (Abb. 3) der NH_3-Assimilation wie auch die auf verbrauchtes Kohlenhydrat bezogene Ausbeute an Trockengewicht und Eiweiß. Mit Tilsiter Bäckerhefe erreichen wir auch bei optimalen Bedingungen nicht die in der Literatur mitgeteilten Ausbeuten (bei *Torula utilis* z. B. auf 100 g Zucker 52,5 g Trockensubstanz mit 59,4% Rohprotein nach Fink und Ross 1952). Vielmehr schwankt die maximale

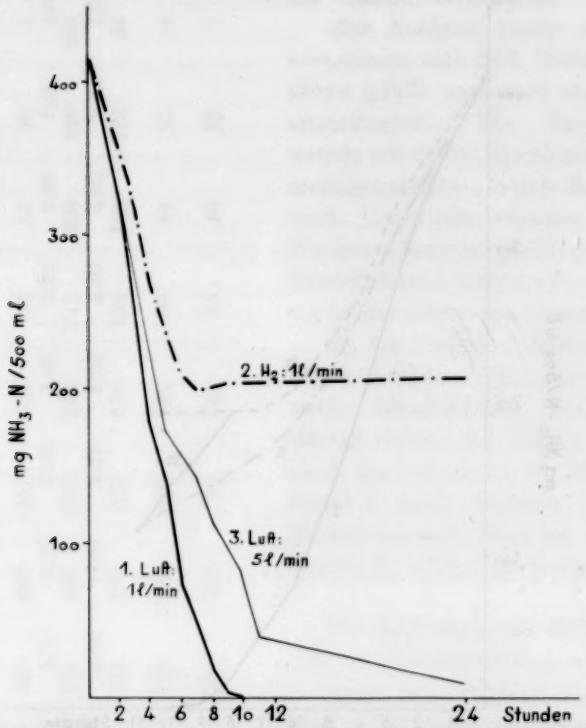


Abb. 2. Einfluß der Begasung des Hefeansatzes auf den NH_3-Verbrauch. (Ansatz wie Abb. 1). *1* Luft 1 Liter/min; *2* H_2 1 Liter/min; *3* Luft 5 Liter/min.

Trockensubstanzausbeute um 41 g je 100 g Rohrzucker mit einem Eiweißgehalt um 34—48% (vgl. Tabelle 2). Die geringen Ausbeuten bei Begasung mit H_2 können durch nachträgliche Belüftung wesentlich gehoben werden (Tabelle 2 und Tabelle 3, Nr. 3, IIb im Vergleich zu 2, IIa und 3, I), ohne den normalen Luftwert zu erreichen[1].

Es darf wohl mit Bestimmtheit angenommen werden, daß die Mehrung der Ausbeute durch nachträgliche Belüftung einer in Anaerobiose gewesenen Suspension auf einer Ausnutzung der Gärprodukte, also vornehmlich des Äthanols beruht. Um das zu überprüfen, haben wir

[1] Sofern nicht anders vermerkt, bedeutet bei den unten beschriebenen Versuchen Luft stets eine Belüftung mit 0,8—1 Liter/min, H_2 eine Begasung durch Wasserstoff mit 0,8—1 Liter/min.

2 Suspensionen verglichen, die bei sonst gleichen Bedingungen in 500 ml 17,1 g Rohrzucker oder 9,2 g absolutes Äthanol[1] enthielten. Diese Suspensionen wurden 48 Std lang normal belüftet (1 Liter Luft/min) oder mit 2% CO_2 enthaltender Luft bei gleicher Strömungsgeschwindigkeit begast. Dadurch hebt sich die Ausbeute im Zuckeransatz kaum, im Alkoholansatz aber wesentlich (Tabelle 4, 2 B, b), ohne den Wert bei

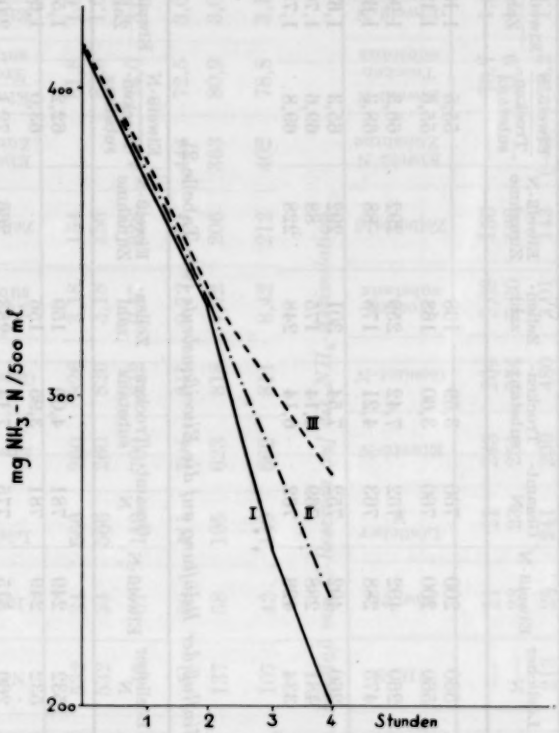


Abb. 3. Einfluß der Begasung des Hefeansatzes auf den NH_3-Verbrauch. (Ansatz wie bei Abb. 1.) I Luft 1 Liter/min; II N_2 mit 2% O_2, 1 Liter/min; III H_2 oder reiner N_2, 1 Liter/min.

Rohrzuckerfütterung ganz zu erreichen und ohne bei Wiederholungen völlig gleich auszufallen, was vielleicht auf eine Entführung von Äthanol durch den starken Luftstrom zurückzuführen ist.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Eiweißproduktion nicht allein durch die O_2-Zufuhr, sondern auch durch die Gegenwart von CO_2 beeinflußt wird, wobei es sich wahrscheinlich um eine C-sparende Wirkung der *Wood-Werkmann*-Reaktion handeln dürfte.

[1] Diese Zahlen errechnen sich aus der Bruttoformel der alkoholischen Gärung, nach der (in der Theorie) 17,1 g Rohrzucker 9,2 g Äthanol liefern können. Reihenversuche haben im übrigen ergeben, daß man in der Äthanolkonzentration keinesfalls über 2,5% hinausgehen darf, da dann bereits eine Hemmung der Eiweißsynthese sich bemerkbar macht.

Tabelle 2. *Einfluß der Belüftung auf die Eiweißausbeute.*

Normalansatz: 510 mg NH_3-N und 10 g Rohrzucker je 500 ml. p_H wird stündlich durch KOH auf 4 reguliert. Nach 24 Std wird die H_2-Probe weitere 24 Std mit H_2 (IIa) oder mit Luft (IIb) begast.

Nr.			NH_3-N	Rest-N	Löslicher N	Eiweiß-N	Gesamt-N	Trocken-substanz	Zellen-zahl	Eiweiß-N Zunahme	$\frac{\text{Eiweiß-N}}{\text{Trocken-substanz}}$	$\frac{\text{Eiweiß-N}}{\text{Zahl}}$	$\frac{\text{Trocken-substanz}}{\text{Zahl}} \cdot 100$
1	Sofort . . .	I	515	45	560	200	760	3,59	168		55,8	1,19	2,13
		II	515	45	560	200	760	3,60	168		55,6	1,19	2,14
2	24 Std Luft	I	170	90	260	492	752	7,42	259	292	66,3	1,90	2,86
	H_2 .	II	412	63	475	288	763	4,21	178	88	68,3	1,62	2,36
3	weitere Luft	I	153	107	260	492	752	7,54	301	292	65,3	1,63	2,50
	24 Std H_2.	IIa	418	63	481	288	769	4,14	175	88	69,6	1,70	2,36
	Luft	IIb	244	90	334	428	762	6,14	248	228	69,8	1,73	2,47

Tabelle 3. *Einfluß der Belüftung auf die Eiweißausbeute* (wie Tabelle 2).

Nr.			NH_3-N	Rest-N	Löslicher N	Eiweiß-N	Gesamt-N	Trocken-substanz	Zellen-zahl	Eiweiß-N Zunahme	$\frac{\text{Eiweiß-N}}{\text{Trocken-substanz}}$	$\frac{\text{Eiweiß-N}}{\text{Zahl}}$	$\frac{\text{Trocken-substanz}}{\text{Zahl}} \cdot 100$
1	Sofort . . .	I	498	34	532	249	781	4,00	159		62,2	1,56	2,52
		II	498	34	532	249	781	3,95	156		63,0	1,60	2,54
2	24 Std Luft	I	164	96	260	515	775	7,14	253	266	72,1	2,03	2,82
	H_2 .	IIa	402	85	487	295	782	4,36	178	46	67,7	1,66	2,45
3	weitere Luft	I	164	62	226	548	774	7,05	253	299	77,7	2,16	2,79
	24 Std Luft	IIb	209	119	328	441	769	6,64	235	192	66,3	1,88	2,82

Tabelle 4. *Einfluß der CO_2-Zufuhr auf die Eiweißsynthese einer mit Rohrzucker oder Äthanol gefütterten Bäckerhefe* (p_H konstant auf 4 gehalten).

Nr.			NH_3-N	Rest-N	Löslicher N	Eiweiß-N	Gesamt-N	Trockensubstanz	Zellenzahl	Eiweiß-N Zunahme	Eiweiß-N / Trockensubstanz	Eiweiß-N / Zahl	Trockensubstanz / Zahl · 100
1	sofort	A. Zucker	532	34	566	260	826	3,18	154		81,8	1,64	2,00
		B. Äthanol.	532	34	566	260	826	3,18	156		81,8	1,66	2,04
2	nach 48 Std	A. Zucker, a) Luft . .	45	67	112	700	812	9,47	228	440	74,0	3,07	4,16
		b) Luft . . + CO_2	51	60	111	704	815	9,72	231	444	72,5	3,05	4,21
		B. Äthanol a) Luft . .	137	58	195	623	818	7,72	206	363	80,9	3,02	3,75
		b) Luft + CO_2	107	42	149	662	811	8,42	212	402	78,8	3,13	3,97

Tabelle. 5. *Einfluß von C-Reserven auf die NH_3-Assimilation.*

Nr.		NH_3-N	Rest-N	Löslicher N	Eiweiß-N	Gesamt-N	Trockensubstanz	Zellenzahl	Eiweiß-N Zunahme	Eiweiß-N / Trockensubstanz	Eiweiß-N / Zahl	Trockensubstanz / Zahl · 100
1	A. Hungerhefe (24 Std in Luft)	—	21	21	243	264	3,09	156	—	78,7	1,56	1,98
2	B. Masthefe (24 Std in Luft + KH) . .	—	23	23	251	274	7,20	162	—	34,9	1,55	4,45
3	A + 210 mg NH_3-N (12 Std in Luft) . .	213	28	241	239	480	3,01	143	(—4)	79,2	1,67	2,11
4	B + 210 mg NH_3-N (12 Std in Luft) . .	180	31	211	273	484	7,06	178	22	38,7	1,54	3,96
5	A + 210 mg NH_3-N + 4 g Zucker (12 Std in Luft)	99	38	137	339	476	4,82	199	96	70,4	1,70	2,42
6	B + 210 mg NH_3-N + 4 g Zucker (12 Std in Luft)	48	40	88	393	481	9,26	345	142	42.5	1,14	2,69

Im übrigen hat das Äthanol bei Bäckerhefe eine gewisse Sonderstellung inne. Wir haben noch andere Alkohole geprüft. Bei guter Belüftung werden in kurzfristigen Versuchen Methanol und Mannit überhaupt nicht, Glycerin wahrscheinlich nicht oder nur in sehr geringem Maße verwertet.

Für unsere weiteren Untersuchungen ist die Rolle des von außen gebotenen Zuckers im Vergleich zu der des in den Zellen in irgendeiner Form gespeicherten (Masthefe) bei der NH_3-Assimilation von besonderer Bedeutung (Tabelle 5).

Hefe, die 24 Std bei guter Belüftung im KH-Hunger gehalten wird (Hungerhefe A, Nr. 1), assimiliert danach, wenn wohl NH_3, aber kein Zucker geboten wird, kein NH_3 (Nr. 3). Wird eine gleiche Portion Hefe 24 Std fortlaufend mit Rohrzucker bei guter Belüftung gefüttert, so steigt ohne wesentliche Zellvermehrung der Trockensubstanzgehalt bedeutend an (Masthefe B, Nr. 2). Solche Masthefe, gut gewaschen, in weiteren 12 Std bei guter Belüftung mit NH_3 versorgt, erhöht die Zellenzahl nur unbedeutend und assimiliert wenig NH_3-N zu Eiweiß (Nr. 4). Nimmt man an, daß das Mehr an Trockensubstanz der Masthefe (7,20 bis 3,09 = rund 4) reinem Rohrzucker entspricht, so müßte dieser ausreichen, um wenigstens 120 mg NH_3-N in Eiweiß zu überführen; es werden aber nur 22 mg Eiweiß-N gebildet. Masthefe ist also aus besonderen Gründen in der NH_3-Assimilation gehemmt.

Wird Hungerhefe mit NH_3 und mit 4 g Rohrzucker gefüttert, so steigt der Eiweiß-N-Gehalt um 96 mg (Nr. 5). Wird Masthefe in gleicher Weise behandelt, so steigt der Eiweiß-N um 142 mg (Nr. 6). Nehmen wir im Durchschnitt auf 4 g Rohrzucker eine maximale Eiweißsynthese entsprechend 120 mg N an, so hat die Masthefe mehr geleistet, offenbar auf Kosten der Reserven.

Von außen gebotenes Kohlenhydrat fördert die NH_3-Assimilation also wesentlich stärker als gespeichertes (Vergleich 5:4); es erhöht aber auch die Ausnutzung des gespeicherten, denn die Zunahme bei Nr. 6 (142) ist größer als die bei 4 + 5 (23 + 96 = 118).

Ob der von außen gebotene Zucker die C-Reserven besser in den Eiweißstoffwechsel hineinreißt und eine Stoffwechselträgheit der Masthefe überwinden hilft, oder ob die Wirkung über eine Steigerung der NH_3-Aufnahme geht, bleibt zunächst offen.

Aminosäuren als N- und C-Quelle.

Hungerhefe in gewöhnlicher anorganischer Nährlösung ohne NH_3 mit Glycin, Alanin, α-Aminobuttersäure, Leucin, Isoleucin, Valin, Serin, Phenylanalin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenylalanin, Arginin, Glutamin gefüttert, wobei — vom Glykokoll abgesehen — die natürlichen optischen Isomeren verwendet wurden, zeigt in 12—24 Std keiner-

lei Vermehrung des Eiweiß-N und keinerlei Abnahme des nach VAN SLYKE bestimmbaren α-Amino-N (Tabelle 7, 1), sofern nicht gleichzeitig Zucker gegeben wird. Voraussetzung dieses Ergebnisses ist frische, gut gewaschene, praktisch bakterienfreie Hefe. Optimale Belüftung, Veränderung des p_H von 3—8 beeinflussen dieses Ergebnis nicht.

Ist die Hefe alt oder aus anderen Gründen geschädigt, wofür wir als Anhaltspunkt die Färbbarkeit mit Methylenblau benutzen, oder sind Bakterien mikroskopisch nachweisbar in großer Zahl gegenwärtig, kann ohne nennenswerte Vermehrung des Eiweiß-N ein Schwund an α-Amino-N und das Auftreten von NH_3-N beobachtet werden.

Wir schließen daraus, daß intakte Bäckerhefe unter physiologischen Bedingungen in Abwesenheit von Zucker die geprüften Aminosäuren nicht umzusetzen vermag. Darin liegt ein bedeutender Unterschied gegenüber vielen anderen Pilzen (Mucor, Penicillium, Aspergillus), die Aminosäuren auch ohne Zuckergegenwart zu desaminieren und die C-Kette wie auch den Stickstoff zum Aufbau von Körpersubstanz zu verwenden befähigt sind.

In ergänzenden Versuchen wurde ausgehungerte Bäckerhefe mit verschiedenen organischen Säuren bei gleichzeitiger Gegenwart von NH_3 in der üblichen anorganischen Nährlösung und in Abwesenheit von Zucker ernährt. Essigsäure, Äpfelsäure, Fumar-

Tabelle 6. *Der Einfluß von Bernstein- und Milchsäure auf die NH_3-Assimilation bei anfänglich gleichem p_H (:3,5).*

		End-p_H	NH_3-N	Rest-N	Löslicher N	Eiweiß-N	Gesamt-N	Trockensubstanz	Zellenzahl	Eiweißzunahme
A. Sofort		3,5	520	23	543	208	751	3,48	178	
B. Nach 6 Std Luft!	1. + 10 g Rohrzucker	2,6	398	28	426	316	742	5,01	197	108
	2. + + 11,5 g Bernsteinsäure	3,5	526	34	560	198	758	3,30	170	(— 10)
	3. + 10 g Rohrzucker + 11,5 g Bernsteinsäure	2,6	364	28	392	357	749	5,68	199	149
	4. ohne Zucker, ohne Säure	3,8	534	20	554	196	750	3,19	160	(— 12)
	5. + 10 g Rohrzucker	2,6	386	32	418	328	746	5,32	209	120
	6. + 10 g Milchsäure	2,9	441	48	489	261	752	5,01	184	53
	7. + 10 g Rohrzucker + 10 g Milchsäure	2,6	292	57	349	399	748	6,13	221	191
	8. ohne Zusatz	3,6	546	28	574	187	761	3,28	164	(— 21)

Tabelle 7. *L-Alanin, L-Asparaginsäure und L-Asparagin*

Nr.				Anfangs-pH	NH_3-N	α-Amino-N
1	Hungerhefe ohne Zucker	ohne N	sofort	—	0	12
		+ L-Alanin	sofort	3,8	2	246
			nach 8 Std	3,9	5	239
		+ L-Asparaginsäure	sofort	3,8	0	222
			nach 8 Std	3,7	4	214
		+ L-Asparagin	sofort	3,8	3	133
			nach 8 Std	3,7	9	131
2	Masthefe ohne Zucker	+ L-Asparagin	sofort	3,6	4	135
			nach 8 Std	3,6	10	130
3	Hungerhefe ohne Zucker	ohne N, Chloroform	sofort	4,0	2	18
			nach 8 Std	4,3	8	49
		+ L-Asparagin Chloroform	sofort	4,0	0	141
			nach 8 Std	5,6	73	126
4	Hungerhefe + 4 g Zucker	+ NH_3	sofort	3,9	276	14
			nach 8 Std	3,6	209	18
			nach 24 Std	3,4	162	21
		+ L-Asparagin	sofort	3,9	2	137
			nach 8 Std	3,9	18	101
			nach 24 Std	3,5	4	73

säure, Maleinsäure, Zitronensäure gestatten die NH_3-Assimilation nicht, Bernsteinsäure in 2 Fällen ebenfalls nicht (vgl. RUNNSTRÖM, BOREI und SPERBER), in einem ungeklärten Fall in geringem Ausmaße. Dagegen wird Milchsäure leicht assimiliert (FÜRTH und LIEBEN 1922). Sie vermehrt, für sich gegeben, die Trockensubstanz der Hefezellen und erlaubt die Eiweißsynthese aus NH_3. Sie bleibt in ihrer Verwertbarkeit dem Tempo und der Ausbeute an Eiweiß nach hinter Glukose und Rohrzucker zurück und führt zu einer gewissen Anreicherung von organischen N-Verbindungen, die löslich sind (Rest-N) (Tabelle 6).

Werden Glycin oder Alanin oder Leucin oder ähnliche gleichzeitig mit Zucker der Hungerhefe verabreicht, so wird in allen Fällen Stickstoff assimiliert und Eiweiß gebildet. Daß dieser Vorgang wesentlich langsamer läuft, als wenn an Stelle der Aminosäure NH_3 in äquivalenter Menge geboten wird, ist noch zu zeigen (Tabelle 8). In keinem Falle wurde bei kurzfristigen Versuchen im Medium NH_3 angehäuft. Die Umwandlung der Aminosäuren beherrscht also das Tempo der Eiweißsynthese, wobei dahingestellt bleiben muß, ob der Eintritt der Aminosäuren in den Reaktionsbereich der Zelle der begrenzende Faktor ist.

Die Geschwindigkeit der Assimilation der N-Quellen ist von großer Bedeutung für ihren Nutzeffekt. Bei einer bestimmten Zuckermenge

als N-Quelle (Temperatur 18° C, Luft!)*.

Amid-N	Rest-N	Löslicher N	Eiweiß-N	Gesamt-N	Veränderungen			
					NH_3-N	Amino-N	Amid-N	Eiweiß-N
3	23	23	254	277				
5	263	265	245	510				
2	259	264	230	494	+ 3	— 7		— 15
1	241	241	259	500				
4	259	263	241	504	+ 4	— 6		— 18
120	276	279	252	531				
116	279	288	242	530	+ 6	— 2	— 4	— 10
119	274	278	238	516				
111	277	287	235	522	+ 6	— 5	— 6	— 3
3	27	29	239	268				
4	76	94	181	275	+ 6	+31		— 58
123	284	284	244	528				
62	276	349	183	532	+ 73	—15	—61	— 61
2	40	316	252	568				
5	52	263	309	572	— 67	+ 4		+ 57
3	48	210	353	563	—114	+ 7		+101
109	267	269	248	517				
69	197	215	299	514	+ 16	—26	—40	+ 51
47	138	142	367	509	+ 7	—64	—62	+119

* Diese Versuche wurden mehrfach wiederholt.

bewirkt jene N-Quelle die absolut größte Eiweißsynthese, die am schnellsten assimiliert wird.

Asparagin als N- und als C-Quelle.

Das in den folgenden Versuchen benutzte L-Asparagin enthält etwas Asparaginsäure; das Verhältnis von α-Amino-N:Amid-N ist 53:47.

Obwohl Asparagin als eine vorzügliche N-Quelle für die meisten Pilze und auch für Hefen bekannt ist und obwohl verschiedene Pilze Asparagin auch als C-Quelle zu nutzen und auf ihm als alleinigem organischem Nährstoff zu wachsen vermögen, kann frische, gut gewaschene Tilsiter Bäckerhefe Asparagin bei Abwesenheit von Zucker weder in O_2 noch in H_2 oder N_2 assimilieren (Tabelle 7, 1). Auch findet keinerlei enzymatischer Angriff auf Asparagin statt. Es ist nach 12 Std noch unversehrt vorhanden. Veränderungen des p_H von 3 bis auf 6,5 haben auf dieses Ergebnis keinen Einfluß. Hungerhefe und Masthefe verhalten sich dabei völlig gleich (Tabelle 7, 2). Während Masthefe NH_3 auch ohne Zuckergabe assimiliert (Tabelle 5, 4), verwertet sie Asparagin nicht (Tabelle 7, 2).

Wird in einer Suspension von Tilsiter Bäckerhefe bei Abwesenheit von Zucker Asparagin abgebaut und tritt im Medium NH_3 auf, so kann

das 2 Ursachen haben. Entweder ist das Hefemetarial nicht rein, sondern mit Bakterien oder anderen „Hefen" durchsetzt, die Asparagin zu desamidieren oder zu desaminieren vermögen, oder die Hefe ist geschädigt (Methylenblaufärbung). Solche Schädigung kann durch kurzes Einfrieren der Hefe über Trockeneis und vor allem durch Narkotika wie Chloroform, Äther oder Toluol erreicht werden. Dabei genügen bereits 0,1 g Chloroform je 500 ml Hefeansatz (Tabelle 7, 3).

Geschädigte Hefe baut den Amid-N schneller ab als den Amino-N (vgl. Schmalfuss und Mothes) (Tabelle 7, 3). Wird Tilsiter Bäckerhefe neben Asparagin wenig Zucker geboten, so setzt sowohl in O_2 wie auch in N_2 sofort die Asparaginassimilation ein. Die Eiweißfraktion nimmt zu (Tabelle 7, 4).

Zucker „öffnet" die Hefezelle für Asparagin (vgl. N. Nielsen 1936). Die Reaktionsbereitschaft gegenüber diesem Amid ist immer vorhanden. Man hat den Eindruck, daß gesunde Hefe im Gegensatz zur geschädigten dem Asparagin gegenüber verschlossen ist.

Bei der Assimilation von im Überschuß vorhandenem Asparagin wird im Anfang häufig die Bildung von wenig NH_3 beobachtet; es wird mehr Asparagin abgebaut als assimiliert. Gleichzeitig nimmt die Amidgruppe schneller ab als die Aminogruppe. Jedoch gleicht sich dies nach einiger Zeit aus, und das Ammoniak verschwindet. Obwohl also die Gegenwart des Zuckers die Verarbeitung des Asparagins gestattet (im Gegensatz zum zuckerfreien Medium), wird vom Asparagin nicht wesentlich mehr verarbeitet als zur Eiweißsynthese verbraucht wird (Tabelle 7, 4).

In Gegenwart von Zucker wirkt Asparagin zuckersparend, d. h. die Gesamtausbeute an Eiweiß ist größer als die bei Zucker + NH_3. Daraus darf wohl geschlossen werden, daß die C-Kette des Asparagins mitverwertet wird, obschon man immer im Auge behalten muß (Tabelle 7, 4), daß eine größere Eiweißsynthese durch eine Steigerung der Geschwindigkeit der N-Assimilation zustande kommen kann. Doch ergeben vergleichende Reihenversuche, daß Asparagin nicht schneller als NH_3 assimiliert wird (Tabelle 7, 4; Tabelle 8). Im Gegensatz hierzu stehen die Angaben von Hartelius (1939) und Thorne (1949).

Über die Geschwindigkeit der Verwertung von Aminosäuren und Eiweißhydrolysaten.

Die vorher beschriebenen Versuche haben gezeigt, daß die Gegenwart von Zucker darüber entscheidet, ob Asparagin und gewöhnliche Aminosäuren mit Hefe reagieren. Worauf diese eigentümliche Wirkung des Zuckers beruht, ist noch ungeklärt. Es könnte sich um einen besonderen Permeationsmechanismus handeln, bei dem Zucker oder ein Reaktionsprodukt von ihm, oder ein durch den Zuckerumsatz geschaffener Reak-

tionszustand gewissermaßen das Gefährt abgeben, mit dem die Aminosäuren an den Ort ihrer Umsetzung gelangen.

Wir haben in Gegenwart von ausreichenden Zuckermengen (Normalansatz) und bei guter Belüftung untersucht, wieviel einer bestimmten Stickstoffquelle im Vergleich zu NH_3 (als $[NH_4]_2HPO_4$) in einer bestimmten Zeit in Eiweiß verwandelt ist. Von den einfachen Aminosäuren schieden die mit zu geringer Löslichkeit aus (z. B. Tyrosin, Leucin, Cystin), denn die zu vergleichenden Substrate mußten in bezug auf N in entsprechender Konzentration geboten werden. Je Ansatz wählten wir im allgemeinen rund 200 mg N neben 20 g Rohrzucker, verringerten jedoch die Hefekonzentration auf die Hälfte. Die Versuche wurden nach 4 Std durch Zusatz von Trichloressigsäure abgebrochen. Dann sind im allgemeinen etwa 100 mg NH_3-N in die Eiweißsynthese eingegangen. In der Tabelle 8 ist diese Menge gleich 100 gesetzt, und die übrigen Eiweißsynthesen sind darauf bezogen.

Tabelle 8. *Die relative Eiweißsynthese durch Hungerhefe aus verschiedenen N-Quellen in Gegenwart von Zucker.*

Alle Ansätze werden in bezug auf N in äquimolekularen Konzentrationen hergestellt. Als Bezugsgröße und Kontrolle dient ein Vergleichsansatz mit NH_4, dessen Eiweißsynthese = 100 gesetzt wird (Luft!; Anfangs-p_H = 4; Temperatur 18—19 °C; Dauer 4 Std.)

NH_3	100		Caseinhydrolysat	88,	109, 91, 106
Glycin	14,	18, 13	Caseinhydrolysat + 1/20 Glutamin	120,	124, 119
L-Alanin	22,	41	Caseinhydrolysat + 1/20 Asparagin	108,	90, 97
L-Asparagin	92,	104	Caseinhydrolysat + 1/1 Asparagin	97,	98, 102
L-Asparaginsäure	94,	88	Caseinhydrolysat + 1/2) Glutaminsäure	93,	95, 89
L-Glutamin	86,	91	Caseinhydrolysat + 1/1 Glutaminsäure	73,	77
L-Glutaminsäure	56,	63	Caseinhydrolysat + 1/20 Isoleucin	103,	92
L-Serin	19,	17	Caseinhydrolysat + 1/1 Isoleucin	42,	40
L-Cystein · HCl	8,	11	Caseinhydrolysat + 1/20 Glycin	98,	94
L-Isoleucin	32,	13	Caseinhydrolysat + 1/1 Glycin	27,	34
L-Phenylalanin	18,	25			
L-Arginin	82,	89			
L-Histidin	28,	33			
L-Serin + 1/20 Asparagin	24,	26			
L-Isoleucin + 1/20 Asparagin	35,	35			

Tabelle 8 zeigt im 1. Teil, daß L-Asparagin, wie schon in Tabelle 7 belegt, etwa so schnell wie NH_3 reagiert, das gleiche trifft für L-Asparaginsäure zu. Hohe Geschwindigkeiten lassen auch L-Glutamin und L-Arginin zu. Alle anderen geprüften Aminosäuren liegen wesentlich zurück.

Eine gleichzeitige Gabe von Asparagin oder Asparaginsäure in einer Konzentration an N, die etwa gleich $^1/_{20}$ der N-Konzentration der Aminosäurenansätze ist, steigert die Assimilation der Aminosäuren nicht oder nicht eindeutig bestimmbar, da der, wenn auch an Menge geringfügige, Zusatz doch ausreicht, um die Eiweißsynthese absolut um etwa 10 mg N zu heben auf Grund eben des Zusatzes von Asparagin (bzw. -säure). Ein Einfluß auf die Verwendbarkeit der einzelnen Aminosäuren durch Förderung von Umaminierungen ist jedenfalls in diesen Versuchen nicht feststellbar.

Wenn man diese Ergebnisse mit denen von Thorne und von Barton-Weight und Thorne vergleicht, so ergeben sich ganz bedeutende Unterschiede, die durch die Heferasse und die Versorgung mit Bios-Stoffen bedingt sein mögen (vgl. auch: Zalewski und Israilsky 1914, Lampitt 1919, Claassen 1926, 1934, Kautzmann 1931, Nielsen 1936, Hartelius 1939, Schultz, McManus und Pomper 1949, Haehn 1952).

Sehr hohe Werte der Geschwindigkeit der Eiweißsynthese erhielten wir durch ziemlich komplette Aminosäurengemische von Kaseinhydrolysaten, die wir durch stufenweisen Abbau mit Pepsin, Papain und Trypsin gewannen. Diese Hydrolysate enthielten nur rund 60% des Gesamt-N in Form von α-Amino-N (nach van Slyke). Man muß wohl damit rechnen, daß der Rest zu einem wesentlichen Teil aus Peptiden besteht. Da diese nach N. Nielsen, Damlé und Thorne nur sehr langsam assimiliert werden, dürften die hohen relativen Synthesezahlen der Hydrolysate eben auf das Vorhandensein bereits fertiger Aminosäuren zurückzuführen sein.

Wird mit dem Eiweißhydrolysat gleichzeitig eine langsam verwertbare Aminosäure gegeben, in einer (in bezug auf α-Amino-N) gleichen Konzentration ($^1/_1$ Isoleucin, $^1/_1$ Glycin), so wird die Eiweißsynthese bedeutend gebremst. Ein geringer Zusatz (= $^1/_{20}$ der N-Menge des Hydrolysates) beeinflußt die Eiweißsynthese kaum. Eine Ausnahme machten das L-Asparagin und das L-Glutamin. Asparagin hemmt die Eiweißsynthese aus Kaseinhydrolysat nicht. Glutamin scheint eine fördernde Wirkung zu entfalten. Das ist um so auffälliger, als Glutamin allein nicht besser als Eiweißhydrolysat assimiliert wird. Auch zeigen weder Asparagin noch Glutaminsäure eine fördernde Wirkung.

Wir sind geneigt, anzunehmen, daß die hohe Geschwindigkeit der Assimilation von Eiweißhydrolysaten für eine direkte Überführung der gebotenen Aminosäuren in zelleigenes Eiweiß spricht (Thorne 1949),

während die Trägheit der Reaktion einzelner Aminosäuren ein Ausdruck der langsamen Desaminierung sein dürfte. Denn wenn die Permeabilität der Aminosäuren der begrenzende Faktor wäre, müßte dieser sich auch bei dem Aminosäurengemisch auswirken.

Der stark hemmende Einfluß einzelner zum Hydrolysat im Überschuß zugefügter Aminosäuren deutet darauf hin, daß die Hefezelle aus dem Aminosäurengemisch nicht beliebig die geeigneten Aminosäuren auszuwählen vermag, sondern daß ein optimales Gemisch existiert, das durch den Überschuß bestimmter Komponenten — vielleicht infolge von Konkurrenzwirkungen — gestört wird.

Wieweit der die Assimililation des Hydrolysats fördernde Einfluß des Glutamins im Sinne einer Mitwirkung bei der Knüpfung von Peptidbindungen gedeutet werden kann, bedarf noch gründlicherer Untersuchungen (vgl. WAELSCH).

Auch bleibt zu prüfen, in welchem Maße der Zusatz von Vitaminen diese Vorgänge zu beeinflussen vermag (vgl. HAEHN, S. 141).

Zusammenfassung.

1. Die Geschwindigkeit und maximale Ausbeute der Eiweißsynthese bei Bäckerhefe erfordert nicht allein eine gute Durchlüftung, sondern auch eine gewisse CO_2-Gegenwart, namentlich, wenn an Stelle von Zucker Äthanol als C-Quelle geboten wird.

2. Die in einer Masthefe gespeicherten bedeutenden C-Reserven gestatten eine nur sehr langsame Assimilation von NH_3. Wird einer Masthefe außer NH_3 auch Zucker geboten, so werden ihre Reserven besser genutzt als ohne Zucker.

3. Zahlreiche geprüfte Aminosäuren werden durch Hungerhefe in Abwesenheit von Zucker weder verwertet noch angegriffen. Tritt in solchen Versuchen NH_3 auf, so sind immer Bakterien oder andere Hefen im Spiel.

4. Essigsäure, Äpfelsäure, Fumarsäure, Maleinsäure und Zitronensäure gestatten die NH_3-Assimilation nicht, Bernsteinsäure wahrscheinlich nicht, dagegen kann Milchsäure den Zucker ersetzen, wenn sie auch in der Intensität der assimilatorischen Vorgänge hinter ihm zurückbleibt.

5. Asparagin wird von gesunder Hunger- oder Masthefe nur verwertet, wenn gleichzeitig Zucker geboten wird. Geschädigte Hefe greift Asparagin an, ohne es zu assimilieren. Dabei schwindet die Amidgruppe schneller als die Aminogruppe; NH_3 reichert sich an.

6. Die einzelnen Aminosäuren werden in Gegenwart von Zucker mit sehr verschiedener Geschwindigkeit assimiliert. Der NH_3-Wert wird annähernd von L-Asparagin und L-Asparaginsäure erreicht. Auch L-Arginin ist eine gute N-Quelle.

7. Asparagin oder Asparaginsäure steigern die Assimilation stoffwechselträger Aminosäuren nicht oder nicht deutlich.

8. Kaseinhydrolysat wird weit besser als die meisten Aminosäuren assimiliert. Dieser Vorgang scheint durch Glutamin gefördert zu werden, durch Asparagin aber nicht. Langsam verwertbare Aminosäuren, im Überschuß zum Hydrolysat gegeben, mindern dessen Assimilierbarkeit bedeutend.

Literatur.

Barton-Weight, E. C., and R. S. W. Thorne: J. Inst. Brewing **55**, 383 (1949). Claassen, H.: Z. angew. Chem. **39**, 443 (1926). — Z. Ver. dtsch. Zuckerind. **1934**, 713. — Damlé, W. R., and R. S. W. Thorne: J. Inst. Brewing **55**, 13 (1949). — Fink, H.: Z. physiol. Chem. **195**, 215 (1930). — Fink, H., u. M. Ross: Biochem. Z. **323**, 389 (1951). — Fürth, O., u. F. Lieben: Biochem. Z. **132**, 165 (1922). — Haehn, H., u. M. Glaubitz: Wschr. Brauerei **46**, 315 (1929). — Biochemie der Gärungen. Berlin 1952. — Hartelius, V.: C. r. Trav. Lab. Carlsberg, Sér. physiol. **22**, 303 (1939). — Lampitt, L. H.: Biochemic. J. **13**, 459 (1949). — Nielsen, N.: C. r. Trav. Lab. Carlsberg, Sér. physiol. **21**, 395 131, (1936). — Runnström, J., H. Borei u. E. Sperber: Ark. Kemi **13** A, Nr 22 (1944). — Schultz, A. S., and S. Pomper: Arch. of Biochem. **19**, 184 (1948). — Schultz, A. S., D. K. McManus and S. Pomper: Arch. of. Biochem. **22**, 417 (1949). — Schwartz, W., u. R. Kautzmann: Arch. Mikrobiol. **2**, 538 (1931). — Singh, K., P. N. Agarwal and W. H. Peterson: Arch. of Biochem. **18**, 181 (1948). — Thorne, R. S. W.: J. Inst. Brewing **39**, 608 (1933); **55**, 201 (1949). — Waelsch, H.: Adv. Enzymol. (**3**, 237 (1953). — Zalewski, W., u. W. Krailsky: Ber. dtsch. bot. Ges. **32**, 472 11914).

Prof. Dr. K. Mothes,
Inst. für Kulturpflanzenforsch. Gatersleben, Kreis Quedlinburg.

Planta, Bd. 42, S. 81—128 (1953).

DIE RELATION ANTHERENSTELLUNG/POLLENKORNGRÖSSE BEI BLÜTENDIMORPHISMUS UND DAS KOMPATIBILITÄTSPROBLEM*.

Von

ALFRED ERNST.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. März 1953.)

I. Einleitung und Fragestellung.

Die bei den Blütenpflanzen zwischen Bestäubung und Frucht- und Samenbildung sich abspielenden physiologischen und biochemischen Vorgänge sind auch in den letzten Jahren immer wieder Gegenstand eingehender Untersuchungen und Erörterungen gewesen. Von verschiedenen Voraussetzungen und Gesichtspunkten aus wird nach wie vor das alte Problem von Selbststerilität und Selbstfertilität als Folgen von Inkompatibilitäts- und Kompatibilitätserscheinungen angegangen.

Inkompatibilität im weitesten Sinne des Wortes umfaßt nach neueren Definitionen (vgl. z.B. LEWIS 1944, S. 575) jede, nicht auf Kerndefekten beruhende Hemmung der Gametenvereinigung innerhalb eines regulären Fortpflanzungssystems. Sie ist immer genetisch bestimmt und hindert die Gametenvereinigung naheverwandter Eltern, vor allem natürlich nach Bestäubung von Blüten mit ihrem eigenen Pollen.

Selbststerilität infolge Inkompatibilität zwischen Pollen und Stempel derselben Blüte und von verschiedenen Blüten desselben Individuums kann durch 2 verschiedene genetische Systeme kontrolliert werden. Das eine ist für Blütenpflanzen mit *monomorphem* Blütenbau, das andere für Arten mit di- und trimorphem Blütenbau aufgestellt worden. Für blüten*monomorphe* Arten, wie *Nicotiana*-Arten, wird dieses System in neueren Arbeiten (vgl. STOUT 1938; LEWIS 1944 und 1949; BABCOCK und HUGHES 1950a, S. 363; HUGHES und BABCOCK 1950b, S. 581) durch folgende Komponenten charakterisiert: "one gene with multiple alleles; independent gene action in the pistil; haploid (gametophytic) pollen control; no dominance." Für blüten*dimorphe* und polymorphe Arten, wie Vertreter der Gattungen *Linum*, *Primula* und *Lythrum*, sind die maßgebenden, genetisch bedingten Faktoren: "one or two genes with two alleles; coordinated gene action in pistil and pollen; diploid (sporophytic) pollen control; dominance."

Bedeutungsvoll sind neuere Feststellungen, die dahin gehen, daß die beiden genannten Systeme nicht schroffe Gegensätze bedeuten. Einzelne

* WILHELM RUHLAND zum 75. Geburtstag gewidmet.

Vertreter typischen Blütenmonomorphismus, wie *Capsella grandiflora* (vgl. RILEY 1936 und LEWIS 1949), besitzen nicht das den anderen blütenmonomorphen Pflanzen zukommende System, sondern folgen dem System für den Blütendimorphismus. Sodann haben BABCOCK und HUGHES für *Crepis foetida* und GERSTEL (1950a und b) für *Parthenium argenteum* ein drittes genetisches System zur Kontrolle der Selbststerilität festgestellt, das eine Kombination von je 2 Einzelfaktoren der beiden obengenannten Systeme bedeutet. Es ist dieses dritte System, wie HUGHES und BABCOCK ausführen, "unique in that it is a combination of features from the two systems of homostyled and heterostyled plants". Schließlich sei nur noch darauf verwiesen, daß weitere "self-incompatibility systems" schon längst vorausgesagt (vgl. MATHER 1944) und neuestens (vgl. BATEMAN 1952) theoretisierend beschrieben worden sind.

Auf die Unterschiede und Übereinstimmungen in der genetischen Bedingtheit der Fertilitäts- und Sterilitätserscheinungen bei mono- und heteromorphen Blütenpflanzen mußte einleitend hingewiesen werden, weil in nicht wenigen der neueren Arbeiten zum Kompatibilitätsproblem die morphologischen Gegebenheiten bei Blütendimorphismus nicht oder nicht genügend Berücksichtigung finden. Nicht selten werden sie in direkt mißverständlicher Weise beschrieben, was sich sodann in einer ebenfalls ungenauen Formulierung der Übereinstimmungen und Unterschiede in den Funktionen der Blüten bei monomorphem und dimorphem Blütenbau auswirkt. So wird z. B. die klassische, auf CH. DARWIN (1877) zurückgehende *Legitimitätsregel* etwa derart verkürzt formuliert, daß Bestäubungen zwischen Organen gleicher Höhenlage fertil, zwischen Organen verschiedener Höhenlage steril seien, oder noch kürzer, daß Bestäubungen zwischen Lang- und Kurzgriffeln fertil, Bestäubungen zwischen Individuen gleicher Griffellänge erfolglos seien. Als selbstverständlich wird des weiteren angenommen, daß hochstehende Antheren großen Pollen ausbildeten, tiefstehende Antheren dagegen kleinen Pollen produzieren und also bei Bestäubungen zwischen Organen gleicher Höhenlage immer großer Pollen die Narben von Langgriffeln und umgekehrt kleiner Pollen aus tiefstehenden Antheren der Langgriffel die Narben der Kurzgriffel fertil bestäube. Ganz oder nahezu ganz unbeachtet blieben bis anhin in diesen theoretischen Erörterungen die schon längst bekanntgegebenen Feststellungen, daß die Relation Antherenstellung/Pollenkorngröße nicht immer der „klassischen Norm" entspricht. In demjenigen Verwandtschaftskreis, in welchem die Fortpflanzungsverhältnisse bei Blütendimorphismus wohl am eingehendsten untersucht worden sind, bei den Primeln, sind nicht nur hochstehende Antheren mit großem, sondern auch mit kleinem Pollen festgestellt worden. Entsprechend gibt es neben tiefstehenden Antheren mit kleinem auch solche

mit großem Pollen. Für diese aberranten Typen ist hinsichtlich der Fertilitätsverhältnisse die einfachere Regel gültig, daß die Narben von Langgriffeln mit großem, diejenige von niederen Stempeln dagegen von kleinem Pollen fertil bestäubt werden — ganz unbeschadet des verschiedenen Entstehungsortes des Pollens.

Der eingehenden Besprechung einiger dieser ungenügend bekanntgewordenen „Ausnahmen von der einfachen Legitimitätsregel" und der Diskussion ihrer Bedeutung für das Inkompatibilitätsproblem möchte ich eine Zusammenstellung der zum Verständnis notwendigen Fachausdrücke und Symbole vorausschicken. Sie dürfte schon deswegen angebracht sein, weil gerade in der neueren physiologisch und biologisch-chemisch orientierten Literatur zur Kompatibilitätsfrage die morphologischen Gegebenheiten bei den besprochenen Pflanzen oft nur ungenau formuliert worden sind, da offenbar auch die in der Fachliteratur gebräuchlichen Bezeichnungen nicht oder nur ungenau bekannt zu sein scheinen.

Schon an Hand der von Darwin (1877) untersuchten dimorphen Arten aus verschiedenen Familien ist eingehend dargelegt worden, *daß der Blütendimorphismus eine mehr oder weniger große Anzahl morphologischer Differenzierungen umfassen kann.* Bei den bekanntesten und am meisten zitierten Beispielen variieren Merkmale von *Androeceum* und *Gynaeceum* zugleich. Bei nicht wenigen anderen Arten aber beschränkt sich der Dimorphismus auf Unterschiede am einen oder andern der beiden Organtypen.

Die Unterschiede im Bau des *Gynaeceums* kommen am sichtbarsten in der verschiedenen Länge der Griffel zum Ausdruck, daher die Bezeichnung *Heterostylie* mit den Alternativen Lang- und Kurzgriffligkeit (longistyl und brevistyl). Außer in der Griffellänge können aber auch in anderen Merkmalen, wie in der Größe und Form der Narbe, der Größe und Form der Papillen der Narbenepidermis, in der Größe und Form des Fruchtknotens und in der Zahl seiner Samenanlagen 2 deutlich unterscheidbare Alternativen zum Ausdruck gelangen.

Die *Heterantherie* umfaßt die Verschiedenheiten in der Ausbildung des Androeceums. In die Augen fallend sind in erster Linie die Verschiedenheiten in der *Stellung der Staubbeutel* zu Corolla und Stempel. Bei den choripetalen Angiospermen sitzen die Antheren auf langen oder kurzen Staubfäden. Bei den sympetalen Vertretern des Dimorphismus sind die Staubfäden in der Regel mit der Corolla verwachsen und nur über eine kurze Strecke unterhalb der Staubbeutel frei. Diese sitzen also sodann zumeist in der Übergangszone von Kronröhre und Kronsaum oder in ± halber Höhe der Kronröhre. Die Bezeichnungen *longi-* und *brevifil* sind also nicht vollkommen eindeutig und zutreffend und würden besser durch Angaben über hohe und tiefe Antherenstellung ersetzt.

Mit den Unterschieden in der Stellung der Antheren können Unterschiede in der Größe der Staubbeutel kombiniert sein. Am auffallendsten und am eingehendsten untersucht sind aber die *Unterschiede in Größe, morphologischer Differenzierung und im physiologischen Verhalten der Pollenkörner*. Die Alternativen groß- und kleinpollig (magni- und parvipollin) haben naturgemäß — wie alle Einzelmerkmale im Blütenbau — beträchtliche Variationsbreiten, doch sind Überschneidungen derselben außerordentlich selten. Ihre weitgehende Unabhängigkeit von klimatischen Einflüssen und Abänderungen der Außenbedingungen ist für unsere einheimischen *Vernales, Primula elatior, officinalis* und *acaulis*, schon von TISCHLER (1918a und b) einwandfrei festgestellt und hernach von uns im Verlaufe der ausgedehnten Untersuchungen an Vertretern von 6 verschiedenen Sektionen der Gattung vollauf bestätigt worden[1].

Der Gegensatz zu *heteromorph* wird in der neueren Literatur zum Inkompatibilitätsproblem teils als *mono-*, teils als *homomorph* bezeichnet. Der erstere Ausdruck ist bis anhin wohl eindeutiger gebraucht worden und vorzuziehen. Er besagt, daß bei einer Spezies nur *einerlei* Blüten zur Ausbildung kommen, während der Ausdruck homomorph von einzelnen Autoren auch im Sinne gleich hoher Stellung von Narbe und Antheren derselben Blüte gebraucht wird. In unseren bisherigen Arbeiten und daher auch im nachfolgenden werden Blüten mit gleich hoher Stellung von Narbe und Antheren mit der schon von DARWIN gebrauchten Bezeichnung *homostyl* aufgeführt. *Homostyl können also sowohl die Blüten monomorpher Arten wie auch besondere, aberrante Phänotypen innerhalb sonst normal-dimorpher Arten sein.* In typisch homostylen Blüten finden sich Narbe und Antheren in $\pm$ gleicher Höhenlage, so daß die Narbe von den zumeist etwas längeren Staubbeuteln allseitig umschlossen wird, um weniges über sie hinausreicht oder unter ihnen zurückbleibt.

Bei den homostylen Phänotypen innerhalb sonst normal-dimorphen Arten (vgl. ERNST 1933, 1936a und b, 1938) sind die Alternativen in der Pollenkorngröße nicht ohne weiteres durch diejenigen der Antherenstellung gegeben. Hoch- wie tiefstehende Antheren können große oder kleine Pollenkörner zur Ausbildung bringen. *Die Pollenkorngrößen und damit die Kompatibilität oder Inkompatibilität bedingenden physiologischen*

[1] Neuerdings haben MOEWUS und WOLFSCHLAG (1952) für 8 andere dimorphe und 2 trimorphe heterostyle Arten, Vertreter der Gattungen *Fagopyrum, Forsythia, Linum* und *Limnanthemum, Lythrum Salicaria* und *Oxalis Valdiviana* entsprechende Unterschiede durch statistisch unanfechtbare Ausmessungen und Auszählungen gesichert. Die von ihnen aus den eigenen Befunden abgeleitete „Regel" aber, „daß jeweils die Organe (Pollenkörner, Narbenpapillen) am größten sind, die in der Blüte am höchsten orientiert sind", hat, wie unsere Befunde an den Primeln aufgezeigt haben, *keine allgemeine Gültigkeit*.

Eigenschaften der Pollenkörner sind von der Antherenstellung durchaus unabhängig. Nachdem bereits in den eben zitierten Mitteilungen dargelegt worden ist, daß die Alternativen der Stempellängen, der Antherenstellungen und der Pollenkorngrößen unabhängig voneinander übertragen werden und sich auch frei miteinander kombinieren können, wird dieser Nachweis im nachfolgenden nochmals für einen kleineren Formen-

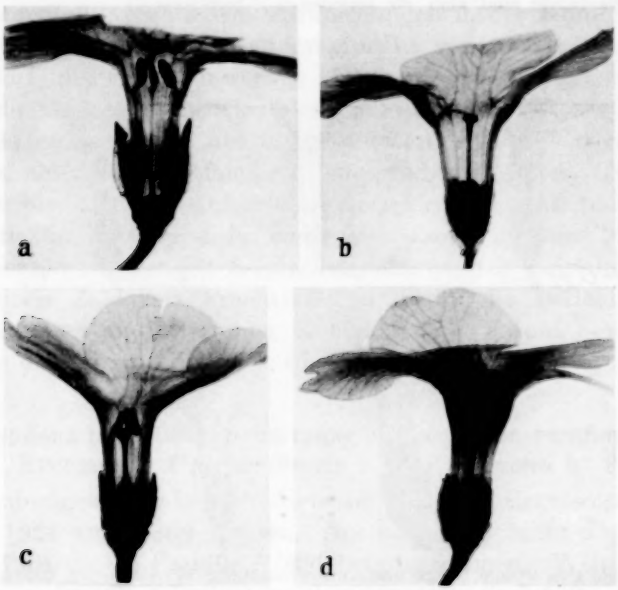


Abb. 1 a—d. Die 3 Blütentypen der *Pr. hortensis* F_2-Familie ^{23}/585, Blüten längshalbiert a Kurzgriffel ^{23}/585, 192$^{\smile}$; Blüte fixiert 11. 5. 28; Phot. ^{33}/183. b Langgriffel ^{23}/585, 165^{-}; Blüte fixiert 1. 5. 32; Phot. ^{33}/172. c Homostyler Langgriffel ^{23}/585, 100 h^{-}; Blüte fixiert 1. 5. 32; Phot. ^{33}/179. d Homostyler Langgriffel ^{23}/585, 213 h^{-}; Blüte fixiert 1. 5. 32; Phot. ^{32}/65.

kreis entwickelt. In diesen Ausführungen werden der Kürze halber wieder die nachfolgenden Bezeichnungen, Abkürzungen und Symbole gebraucht:

Kurzgriffel dimorpher Arten mit hochstehenden Antheren und kurzem Griffel werden mit n$^{\smile}$ oder einfach $^{\smile}$, Langgriffel mit tiefstehenden Antheren und langem Griffel mit n^{-} oder einfach $^{-}$ bezeichnet. Homostyl langgrifflig (h^{-}) sind Blüten, welche mit langem Griffel Antheren in Narbenhöhe vereinigen; der entsprechende Biotypus mit kurzem Griffel und den Staubbeuteln ebenfalls in Narbenhöhe ist homostyl-kurzgrifflig (h$^{\smile}$). Mit P wird der große, mit p der kleine Pollen bezeichnet. h^{-}P ist also ein großpolliger, h^{-}p ein kleinpolliger homostyler Langgriffel. h$^{\smile}$P ist ein großpolliger, h$^{\smile}$p ein kleinpolliger homostyler Kurzgriffel. Normale Langgriffel sind n^{-}p, normale Kurzgriffel n$^{\smile}$P, ohne daß im nachfolgenden auf diesen längst bekannten Unterschied der beiden Normaltypen immer wieder hingewiesen wird.

Ebenfalls zur Raumeinsparung und Vermeidung von Wiederholungen wird der Gattungsname *Primula* in der Regel zu *Pr.* verkürzt; desgleichen die Speziesnamen,

namentlich in Kombination mit anderen Bezeichnungen und Symbolen: *hort* für *hortensis*, *visc* für *viscosa* usw. *hort* n⁻ ist also eine *Pr. hortensis* mit langem Griffel, tiefstehenden Antheren und kleinem Pollen; *visc* h⁻P ist eine *Pr. viscosa* mit langem Griffel, hochstehenden Antheren und großem Pollen.

Die aus Artkreuzungen entstandenen Bastarde werden in der Regel nur durch Aneinanderreihung der beiden abgekürzten Artnamen aufgeführt, wobei der erste Name die *Mutter*pflanze, der zweite den *Pollen*spender bedeutet.

hortvisc-Bastarde sind also *Pr.* (*hortensis* ♀ × *viscosa* ♂);

vischort-Bastarde sind also *Pr.* (*viscosa* ♀ × *hortensis* ♂).

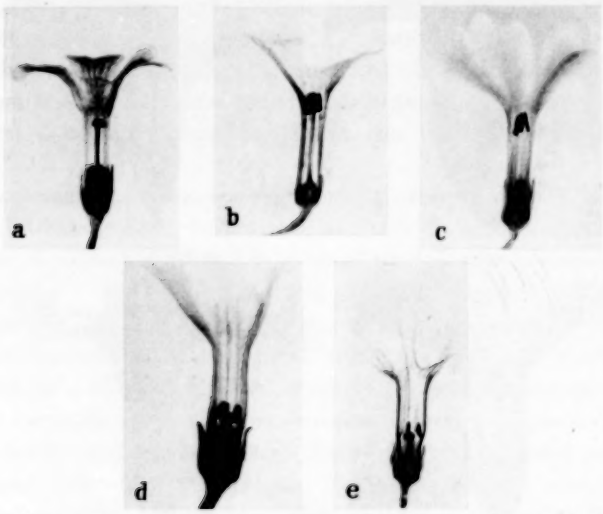


Abb. 2 a—e. Die 4 in Stempellänge und Antherenstellung verschiedenen Blütentypen von *Pr. viscosa* [Stammpflanzen aus den Einsammlungen am Standort (M. MURAIGL, Engadin, in 2500—2600 m)]; a Stammpflanze *Pr. viscosa* 188 n⁻. Blüte vom 17. 6. 31; Phot. $^{32}/_{51}$. b Stammpflanze *Pr. viscosa* 302 h⁻. Blüte vom 22. 7. 26; Phot. $^{32}/_{30}$. c Stammpflanze *Pr. viscosa* 292 n˘. Blüte vom 17. 6. 31; Phot. $^{32}/_{49}$. d Stammpflanze *Pr. viscosa* 307 h˘P. Blüte vom 23. 6. 30; Phot. $^{32}/_{42}$. e Stammpflanze *Pr. viscosa* 305 h˘p. Blüte vom 30. 6. 24; Phot. $^{32}/_{41}$.

Mit diesen Bezeichnungen ist erst die *interspezifische* Kombination der Elternarten, dagegen noch nicht der *legitime* oder *illegitime* Charakter der interspezifischen Bestäubung bestimmt.

hortvisc-Bastarde sind z. B. aus den *interspezifisch legitimen* Bestäubungen *hort* n⁻ ♀ × *visc* n˘ ♂ und *hort* n˘ ♀ × *visc* n⁻ ♂ sowie in kleinerer Zahl auch aus den *interspezifisch illegitimen* Bestäubungen *hort* n⁻ ♀ × *visc* n⁻ ♂ und *hort* n˘ × *visc* n˘ ♂ erhalten worden. Noch viel mehr als für die Kombinationen von normalen Lang- und Kurzgriffeln der Elternarten hat sich die Verwendung genauer Formeln für die genetische Analyse der aberranten Typen aus deren Kombinationen mit normalen Lang- und Kurzgriffeln als unerläßlich erwiesen.

Nach diesen Begriffsbestimmungen und der Einführung in unsere Formulierung der intra- und interspezifischen Bestäubungen sei schließlich noch in aller Kürze an einige der früher mitgeteilten Resultate unserer Untersuchungen zum Heterostylieproblem erinnert.

Von der Gartenaurikel, *Pr. hortensis*, sind aus Bestäubungen zwischen normalen Langgriffeln und einem Kurzgriffel eines besonderen Genotypus Fruchtfamilien aufgezogen worden, die sich ausschließlich aus Kurzgriffeln und homostylen Langgriffeln zusammensetzen. Diese letzteren unterscheiden sich von den normalen Langgriffeln in der Antherenstellung, stimmen dagegen mit ihnen in der Pollenkorngröße weitgehend überein. Von der Wildart *Pr. viscosa* sind außer normalen Lang- und Kurzgriffeln verschiedene Abweichungen in der Kombination der Heterostyliemerkmale, unter anderem nicht weniger als 3 verschiedene homostyle Typen gefunden worden. Die homostylen Typen von *Pr. hortensis* und *viscosa* sind untereinander und mit normalen Lang- und Kurzgriffeln gekreuzt worden. Aus den Resultaten der Aufzucht und Analyse der Hunderte von Fruchtfamilien umfassenden F_1- bis F_5-Generationen greife ich hier nur die Aufschlüsse einer der interessantesten Elternkombinationen, *derjenigen der homostylen Langgriffel von Pr. hortensis und viscosa zur eingehenden Besprechung heraus.* Die sorgfältige Analyse einer kleinen Zahl von Fruchtfamilien dürfte die Bedeutung dieser Untersuchungen an „abnormen Kombinationen" wohl besser hervorheben als ein kurzer Überblick über die Gesamtresultate.

II. Aszendenz und Zusammensetzung einiger F_1-Bastardfamilien aus Kreuzungen *Pr. hortensis* h⁻ p × *viscosa* h⁻ P.

Bestäubungen zwischen *Pr. hortensis* h⁻p und *Pr. viscosa* h⁻P sind erstmals 1924 ausgeführt worden. Aus diesen ist unter anderem (vgl. 1938, S. 230) die F_1-Familie $^{25}/826$ hervorgegangen. Weitere Bestäubungen mit derselben Phänotypenkombination sind 1932—1935 nicht nur unter Benutzung von h⁻p reiner *hortensis*, sondern vor allem auch (1938, Tabelle 85, 2a und b) aus *hortvisc*-Familien durchgeführt worden. Auf Bestäubungen im Jahre 1932 an *hortensis* als Samenpflanzen gehen die beiden Fruchtfamilien $^{33}/451$ und 453 zurück.

Im nachfolgenden wird ausschließlich von diesen erstmals 1938 in Tabelle 85, 2a aufgeführten 3 Familien die Rede sein. Ihrer Analyse werden zweckmäßig die notwendigen Angaben über deren Eltern vorangestellt.

1. Herkunft, Fertilitätsverhältnisse und Genotypus der h⁻-Griffel von Pr. hortensis.

h⁻-Pflanzen sind seinerzeit (vgl. 1925, S. 20) bei der Überprüfung der Kreuzungsmöglichkeiten zwischen der Gartenform *Pr. hortensis* und den verwandten *Wild*arten *Pr. auricula, hirsuta, viscosa* und *integrifolia* in Fruchtfamilien aus den Bestäubungen an und mit dem als M 11 n⁻ bezeichneten *hortensis*-Kurzgriffel entstanden. Aus Samen der aus

legitimen Bestäubungen dieses Stockes mit und an Langgriffeln erhaltenen Früchte sind im gewohnten Verhältnis 1:1 Lang- und Kurzgriffel erhalten worden. Die Langggriffel zeigten aber ausnahmslos nicht die normale Tiefstellung der Antheren; Narbe und Antheren waren vielmehr in gleicher Höhenlage. Sie sind damals als gynandrisch isohyps-longistyl oder bei Übernahme einer in der Literatur schon damals eingeführten, inhaltlich allerdings ungenauen Bezeichnung als *homostyl-langgrifflig* (h^-) bezeichnet worden. Der in ihren Antheren zur Ausbildung gekommene Pollen war, wie durch sehr eingehende und statistisch ausgewertete (vgl. 1936b, S. 92—114) Messungen gezeigt worden ist, zwar etwas größer als derjenige von normalen Langgriffeln anderer Familien, mußte aber, verglichen mit demjenigen von Kurzgriffeln, doch als kleinpollig bezeichnet werden.

Die reziproken Bestäubungen zwischen n^-- und h^--Pflanzen dieser Nachkommenschaften waren voll fertil, dagegen hatten die reziproken Bestäubungen $n^- \times h^-$, wie auch die Selbstbestäubungen an n^- und h^- (vgl. 1936, S. 123—161) durchaus den Charakter illegitimer Bestäubungen und blieben hinsichtlich der Aufzucht von Nachkommenschaften fast erfolglos.

Die eingehende genetische Analyse (1936, S. 188) hat ergeben, daß die *hort*-Stammpflanze M 11 n^- und die in gleicher Weise sich fortpflanzenden und vererbenden Kurzgriffel ihrer Nachkommenschaften *GAP/gAp* und die in ihren Nachkommenschaften auftretenden h^--Pflanzen *gap/gAp* gewesen sind[1]. Das gilt auch für die Familie der Mutterpflanze der Bastardfamilie $^{25}/826$, die aus der Bestäubung eines normalen Langgriffels, Fr 10 n^- mit Pollen von M 11 n^-, hervorgegangen ist. Eine bestäubte Blüte hat eine Frucht mit 47 Samen ergeben. Von diesen keimten 15; 11 Keimlinge konnten zu blühenden Pflanzen, 5 n^- und 6 h^-, aufgezogen werden. Eine dieser h^--Pflanzen, $^{19}/351$, 5 h^-, ist die Mutterpflanze der im nachfolgenden zu analysierenden Fruchtfamilie $^{25}/826$.

[1] Zur Bezeichnung der beiden in bezug auf die Griffellänge verschiedenen Alternativen des *Gynaeceums* sind (1936a, S. 7; 1936b, S. 201) eingeführt worden:

G für das Gynaeceum mit kurzem Griffel
g für das Gynaeceum mit langem Griffel
} G (kurzgrifflig) > g (langgrifflig).

Zur Bezeichnung der beiden in bezug auf die Antherenstellung unterscheidbaren Alternativen des *Androeceums* werden gebraucht:

A für das Androeceum mit hoher Antherenstellung
a für das Androeceum mit tiefer Antherenstellung
} A hohe > a tiefe Antherenstellung.

Zur Bezeichnung der beiden Pollen*qualitäten* mit dem sichtbaren Unterschied der Pollenkorngröße:

P für großen Pollen
p für kleinen Pollen
} P (großpollig) > p (kleinpollig).

GG- und Gg-Pflanzen sind kurzgrifflig (brevistyl), gg-Pflanzen dagegen langgrifflig (longistyl). (Fortsetzung s. S. 89 unten.)

Mutterpflanze von $^{33}/451$ war der h⁻-Griffel $^{23}/582$, 1 h⁻. Auch die dritte der zu analysierenden Familien, $^{33}/453$, hat als Mutterpflanze einen h⁻-Griffel aus der Fruchtfamilie $^{23}/585$. Diese selbst ist aus der Bestäubung $^{19}/353$, 10 n˘ ♀ × $^{19}/334$, 64 h⁻ ♂ erhalten worden. Die 3 Früchte enthielten zusammen 374 Samen. Davon keimten 336; die Zahl der blühenden Nachkommen war 297, davon 126 n˘, 93 n⁻ und 78 h⁻ (vgl. Abb. 1).

2. Herkunft, Fertilitätsverhältnisse und Genotypus der h⁻Griffel von Pr. viscosa.

Der homostyle Phänotypus ist in Kulturen von *Pr. hortensis* offenbar nicht selten. Ähnliches gilt auch für andere „hochgezüchtete", ursprünglich dimorphe *Primula*-Arten, wie *Pr. sinensis* (vgl. DE WINTON und HALDANE 1933) und *Pr. malacoides* (vgl. v. UBISCH 1923 und KOBEL 1937).

Als "Examples of the break-up of an incompatibility mechanism in nature" dagegen erwähnt LEWIS (1949, S. 475) Wildpopulationen von *Pr. vulgaris* (CROSBY 1940 und 1949) und *Limonium vulgare* (BAKER 1948). Er hat offenbar gänzlich übersehen, *daß die bereits 1925 eingehend beschriebenen h⁻- und h˘-Typen von Pr. viscosa ebenfalls in Wildpopulationen gefunden worden sind.* Sie sind an dem eingehend untersuchten natürlichen Standort (vgl. 1936a, S. 220) in beträchtlicher Zahl vorhanden. So sind z. B. allein im Frühjahr 1935 unter 2500 untersuchten Pflanzen nicht weniger als 42 abweichende Phänotypen (1,68%), davon 33 h⁻-Pflanzen, gefunden worden.

Die h⁻-Pflanzen von *Pr. viscosa* sind, verglichen mit den normalen Lang- und Kurzgriffeln, entschieden großpollig. Sie haben sich in den *Selbstungen* ebenso fertil erwiesen (vgl. 1933, S. 66—68) wie in den nach Narben/Antherenstellung und gemäß Pollenkorngröße legitimen Bestäubungen n⁻ ♀ × h⁻ ♂ und h⁻ ♀ × n˘ ♂, während die beiden reziproken Kombinationen h⁻ ♀ × n⁻ ♂ und n˘ ♀ × h⁻ ♂ illegitim sind und in ihren Resultaten, wie die Selbstungen an n⁻ und n˘, weit hinter den legitimen Bestäubungen zurückbleiben.

AA- und Aa-Pflanzen haben *hohe* Antherenstellung, sie sind longifil; aa-Pflanzen haben *tiefe* Antherenstellung, sie sind brevifil.

PP- und Pp-Pflanzen sind *großpollig* (magnipollin), pp-Pflanzen sind kleinpollig (parvipollin).

Für die phänotypische Merkmalsausprägung werden die Symbole G, g, A, a, P, p in gewöhnlichem Druck, für ihre Kombinationen in den Formulierungen der Gameten und der Genotypen in *Kursiv*lettern *G, g, A, a, P, p* gesetzt.

Normale Langgriffel sind phänotypisch ggaapp, genotypisch *gap/gap*, ihre Gameten ausschließlich *gap*.

Normale Kurzgriffel sind
heterozygot GgAaPp, genotypisch *GAP/gap*; ihre Gameten *GAP* und *gap*,
homozygot GGAAPP, genotypisch *GAP/GAP*; ihre Gameten *GAP*.

Der Genotypus der h⁻-Griffel von *Pr. viscosa* ist erstmals für die Pflanze *visc* 293 h⁻ aus der Zusammensetzung der aus intraspezifischer Kombination n⁻ ♀ × h⁻ ♂ erhaltenen Familie [26]/1028 (vgl. 1933, Tabelle 52, S. 169) erschlossen worden. Von deren bis und mit 1932 zum Blühen gelangten Pflanzen waren 9 h⁻ und 6 n⁻[1]. Hohe Antherenstellung und große Pollenkörner kamen also nur ± der Hälfte dieser Nachkommenschaft zu: *visc* 293 h⁻ war heterozygot, ihre Erbformel *gap/gAP*.

Für weitere *visc* h⁻-Stammpflanzen, darunter auch die an der Entstehung der 3 zu analysierenden Familien beteiligten Pflanzen *visc* 153, 299 und 446 h⁻, ist in der Folge derselbe Genotypus aus der Analyse

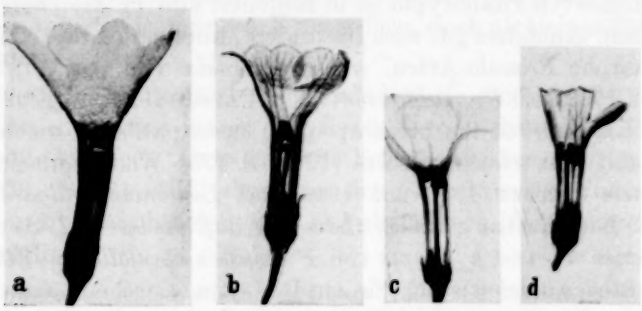


Abb. 3a—d. Blüten der an der Entstehung der F_1-Bastard-Fruchtfamilien [25]/826, [33]/451, [33]/453 usw. als Pollenspender beteiligten *viscosa* h⁻-Pflanzen; a Frische Blüte (längshalbiert) der Stammpflanze *viscosa* 416 h⁻ vom 8. 7. 32; Narbe des hohen Stempels von den Staubbeuteln flankiert und leicht überragt (vgl. auch 1933, Fig. 4, S. 29). b Stammpflanze *viscosa* 153 h⁻. Blüte vom 26. 6. 23; Phot. [32]/27. c Stammpflanze *viscosa* 446 h⁻. Blüte vom 21. 7. 26; Phot. [32]/28. d Stammpflanze *viscosa* 293 h⁻. Blüte vom 18. 6. 27; Phot. [32]/33.

ihrer Nachkommenschaften aus intra- und interspezifischen Bestäubungen (vgl. 1938, Tabelle 85, 2a) erschlossen worden.

Während die h⁻-Pflanzen von *Pr. hortensis* in bezug auf Antherenstellung *Aa*, in bezug auf Pollenkorngröße *pp* waren, wurde für *visc* h⁻ ebenfalls die Antherenstellung *Aa*, in bezug auf die Pollenkorngröße aber der Genotypus *Pp* gefunden; *PP*-Pflanzen sind erst später in den Nachkommenschaften aus *Selbstungen* an *visc* h⁻-Stammpflanzen erhalten worden.

III. Morphologische, physiologische und genetische Analyse der F_1-*hortvisc* Familie [25]/826.

Abgesehen von den Feststellungen über die Fertilität der Kreuzbestäubungen zwischen *hort* h⁻ und *visc* h⁻ war die Frage der Vererbung der Pollenkorngröße auf die Nachkommen von besonderer Bedeutung. Die in dieser Hinsicht erhaltenen Resultate ließen an Deutlichkeit nichts zu wünschen übrig.

[1] Die Gesamtzahl der bis 1944 zum Blühen gelangten Pflanzen von [26]/1028 ist 42, davon 19 n⁻ und 23 h⁻.

Die Familie $^{25}/826$ ist aus den Samen einer Frucht nach Bestäubung *hort* $^{19}/351$, 5 h$^-$ × *visc* 153 h$^-$ hervorgegangen. Von den 45 Samen keimten in 2 Jahren 12; 7 Keimlinge gingen ein und 5 entwickelten sich zu blühenden Pflanzen, ausschließlich h$^-$. Die theoretisch zu erwartenden n$^-$-Nachkommen fehlten in dieser Nachkommenschaft, traten dagegen in 2 weiteren Fruchtfamilien aus ähnlicher Elternkombination (1938, Tabelle 85, 2a, S. 232) in einem der theoretischen Erwartung entsprechenden Verhältnis auf.

Von 3 der 5 h$^-$-Pflanzen von $^{25}/826$ sind in den Blühjahren 1927—1929 die nicht zu Bestäubungen benötigten Blüten fixiert worden. Ihre Ausmessung erfolgte erst 1933, nachdem inzwischen der Unterschied in der Pollenqualität der h$^-$-Pflanzen von *Pr. hortensis* und *viscosa* festgestellt worden war.

1. Die Ausprägung der Heterostylie-Merkmale in $^{25}/826$.

Die Resultate der Phänanalyse sind bereits 1938 (vgl. Tabelle 86 und 87) zusammengestellt worden. Sie ergaben, daß an der gleich hohen Stellung von Narbe und Antheren dieser h$^-$-Pflanzen nicht zu zweifeln

Tabelle 1. *Durchmesser der Pollenkörner der h$^-$-Pflanzen der F_1-Bastardfamilie $^{25}/826$ verglichen mit denjenigen der Elternarten.*

(Blüten in 70% Alkohol + Jod fixiert und konserviert.)

Versuchspflanzen und Datum der Fixierung	Zahl der Messungen	Teilstriche des Mikrometerokulares Nr. 2 Leitz, Objektiv 7. Tubus 160 mm 5	6	7	8	9	10	11	12	13	Gesamtmittelwerte
1. Gesamtmittelwerte für n$^-$, h$^-$ und n$^{\smile}$ von *Pr. hortensis* (vgl. 1936, Tabelle 30, S. 99, und Tabelle 32, S. 105)											
a) $^{19}/334$, 5 h$^-$-Pflanzen, 1921—1923	500	7	209	269	15						6,08
$^{19}/334$, 4 n$^{\smile}$-Pflanzen, 1921—1923	400			13	206	173	8				7,94
b) $^{19}/347$, 4 h$^-$-Pflanzen, 1923—1925	400	2	99	258	41						6,34
$^{19}/347$, 3 n$^{\smile}$-Pflanzen, 1923—1925	300			2	61	206	31				8,39
c) $^{23}/585$, 11 n$^-$-Pflanzen, 1932	1100	95	917	88							5,49
$^{23}/585$, 9 h$^-$-Pflanzen, 1925—1932	900	12	410	452	26						6,05
$^{23}/585$, 10 n$^{\smile}$-Pflanzen, 1925—1932	1000			35	495	438	32				7,97
2. Gesamtmittelwerte für n$^-$, n$^{\smile}$ und h$^-$ von *Pr. viscosa* (vgl. 1933, Tabelle 39 und Tabelle 40, S. 140/141)											
visc 188 n$^-$, 1927—1932	400		172	224	4						6,08
visc 290 n$^-$, 1930—1932	300		161	137	2						5,97
visc 269 n$^{\smile}$, 1927—1932	400				102	261	37				8,36
visc 292 n$^{\smile}$, 1924—1931	400				127	254	16	3			8,26
visc 153 h$^-$, 1923	300				48	209	43				8,48
visc 293 h$^-$, 1924—1931	500			1	168	303	28				8,22
3. Gesamtmittelwerte für die groß- und kleinpolligen h$^-$-Pflanzen von $^{25}/826$ (vgl. 1938, Tabelle 87, S. 234)											
$^{25}/826$, 2 h$^-$, 1927 und 1928	200			4	32	100	58	6			8,65
$^{25}/826$, 4 h$^-$, 1927	200				34	119	45	2			8,57
$^{25}/826$, 6 h$^-$, 1927 und 1928	200	2	82	111	5						6,095

ist und ihre Stempellänge durchaus mit derjenigen der Langgriffel beider Elternarten übereinstimmt. Von ganz besonderem Interesse wurden die Aufschlüsse über die Beschaffenheit des Pollens dieser h⁻-Pflanzen. Von den 3 analysierten Pflanzen weisen 2, $^{25}/826$, 2 und 4 h⁻, großen, die Pflanze 6 h⁻ dagegen kleinen Pollen auf. Die Durchschnittswerte der ausgemessenen Pollenkörner der ersteren sind (vgl. Tabelle 1,3) eher etwas größer als diejenigen der Kurzgriffel von *hort*-Familien mit oder ohne h⁻-Typen. Sie stimmen dagegen in der Größenordnung durchaus mit denjenigen der Pollenkörner von *visc* n˘ und ganz besonders von *visc* h⁻ (Tabelle 1,2) überein.

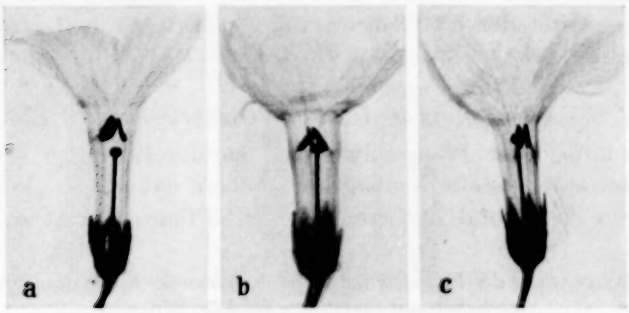


Abb. 4 a–c. Längshälften von h⁻ (homostyl-langgriffligen)-Blüten der F_1-Bastardfamilie $^{25}/826$ (hervorgegangen aus *hort* $^{19}/351$, 5 h⁻ ♀ × *visc* 153 h⁻ ♂); a Blüte von $^{25}/826$, 2 h⁻, fixiert 20. 4. 27; Phot. $^{33}/91$. b Blüte von $^{25}/826$, 4 h⁻, fixiert 20. 4. 27; Phot. $^{33}/92$. c Blüte von $^{25}/826$, 6 h⁻, fixiert 30. 4. 27; Phot. $^{33}/93$. $^{52}/826$, 2 und 4 h⁻ sind *groß*pollig, $^{25}/826$, 6 h⁻ ist *klein*pollig.

$^{25}/826$, 6 h⁻ ist typisch kleinpollig. Der Mittelwert der Pollenkornlänge mit 6,095 ist durchaus derselben Größenordnung mit den Mittelwerten für die n⁻- und h⁻-Pflanzen der *hort*-Familien und der Langgriffel von *Pr. viscosa*.

2. *Der Genotypus der Eltern und der Erbgang der Heterostylie-Merkmale nach ihrer Kreuzung.*

Für $^{19}/351$, 5 h⁻, die Mutterpflanze von F_1 $^{25}/826$, war, wie für alle h⁻-Pflanzen der zuvor aufgezogenen Fruchtfamilien von *Pr. hortensis*, die Erbformel *gap/gAp* nachgewiesen. Sie war also in bezug auf die Pollenbildung pp. Für die verwendete *visc* 153 h⁻ (vgl. 1933, S. 169 und 181) mußte als Genotypus *gap/gAP* angenommen werden, in bezug auf ihre Pollen also Pp. Wäre *visc* 153 h⁻ oder eine andere der zu entsprechenden Bestäubungen verwendeten Stammpflanzen PP gewesen, so hätten wegen der Dominanz P > p alle h⁻-Nachkommen aus Bestäubungen *hort* h⁻p × *visc* h⁻P großpollig sein müssen. Von den 3 analysierten h⁻-Pflanzen waren aber nur 2 groß- und 1 ausgeprägt kleinpollig. *visc* 153 h⁻ war also in bezug auf den Pollen sicher hetero-

zygot, ihre Erbformel *gap/gAP*. So waren also aus Bestäubungen *hort* [19]/315, 5 h⁻ ♀ × *visc* 153 h⁻ ♂ Nachkommenschaften folgender Formulierung zu erwarten:

♀ Elter: *gap/gAp*; Gameten *gap* und *gAp*,
♂ Elter: *gap/gAP*; Gameten *gap* und *gAP*.

Gametenkombinationen:

gap × *gap* = *gap/gap* = n⁻p,
gap × *gAP* = *gap/gAP* = h⁻P,
gAp × *gap* = *gAp/gap* = h⁻p,
gAp *gAP* = *gAp/gAP* = h⁻P.

Neben $^3/_4$ h⁻-Pflanzen, von denen wieder $^2/_3$ h⁻P und $^1/_3$ h⁻p sein sollen, müßten in der Nachkommenschaft zu $^1/_4$ n⁻-Griffel vorhanden sein. Sie fehlten unter den 5 blühenden Pflanzen von [25]/826, dagegen war das Verhältnis von n⁻ : h⁻ für die sämtlichen in Tabelle 85, 2a (1938) aufgeführten Familien aus entsprechenden Kreuzungen 12:35.

3. Kompatibilität und Inkompatibilität der intra- und interspezifischen Bestäubungen an und mit den Phänotypen von [25]/826.

Die Gesamtergebnisse der Bestäubungsversuche an und mit den 3 h⁻-Pflanzen von [25]/826 sind in Tabelle 2 unter III und in Tabelle 3, a—c, zusammengestellt. Sie umfassen deren Selbstungen sowie Bestäubungen an und mit *hort*- und *hortvisc*-Langgriffeln, insgesamt 6 Kombinationen, die in bezug auf Herkunft der Partner, vor allem aber in bezug auf das Verhältnis Stempellänge/Pollenkorngröße, verschieden sind.

Die Selbstungen an [25]/826, 2 und 4 h⁻P, die Bestäubungen an Langgriffeln von *hort*- und *hortvisc*-Familien mit den beiden *hortvisc* h⁻P-Pflanzen sowie die Bestäubungen an [25]/826, 2 und 4 h⁻P mit Pollen von *hortvisc* n˘ und h˘P bedeuten Übertragung von großem Pollen auf die Narben von n⁻- und h⁻-Pflanzen. Ihre Ergebnisse sind in bezug auf Frucht- und Samenbildung durchaus eindeutig und weitgehend derselben Größenordnung. Die verwendeten Exploranden sind in den angegebenen Kombinationen in demselben Grade kompatibel, dagegen haben sich die Übertragung des kleinen Pollens von [25]/826, 6 und 7 h⁻p auf die Narben von Langgriffeln, wie auch die Bestäubungen an [25]/826, 4 h⁻P mit dem kleinen Pollen eines *hortvisc* n⁻-Griffels als inkompatibel erwiesen. Die Resultate der Bestäubungen, der Aufzucht und Analyse der Nachkommenschaften von [25]/826, 2 h⁻P, 4 h⁻P und 6 h⁻p sollen im Interesse der Übersichtlichkeit getrennt zur Darstellung kommen.

4. Die Nachkommenschaften aus Bestäubungen an und mit dem h⁻P- und h⁻p-Typus von [25]/826.

Der *Genotypus* der 3 zunächst nur morphologisch und physiologisch analysierten h⁻-Pflanzen ist durch die Zusammensetzung ihrer Nach-

Tabelle 2. *Frucht- und Samenbildung nach Bestäubungen an und mit hP⁻- und h⁻p-Pflanzen.*

Elternkombinationen	Zahl der Pflanzen	Zahl der bestäubten Blüten	Früchte: Gesamtzahl	Früchte: in % der Bestäubungen	Samen: Gesamtzahl	Samen: pro Bestäubung	Samen: pro samenhaltige Frucht
III. F_1-Familie $^{25}/826$, Bestäubungen 1926—1928							
1. Selbstungen an $^{25}/826$, 2 und 4 h⁻P	2	11	9	82	116	11	13
2. *hort* n⁻ × $^{25}/826$, 2 und 4 h⁻P	3	18	7	39	110	6	16
3. *hortvisc* n⁻ × $^{25}/826$, 2 und 4 h⁻P	6	23	14	61	145	6	10
4. *hortvisc* n⁻ × $^{25}/826$, 6 und 7 h⁻p	3	10	1	10	2	0,2	2
5. $^{25}/826$, 2, 4 und 6 h⁻ × *hortvisc* n˘ und h˘P	4	16	8	50	96	6	12
6. $^{25}/826$, 4 h⁻P × *hortvisc* n⁻	1	6	—				
IV. F_1-Familie $^{33}/451$, Bestäubungen 1934—1937							
1. Selbstungen an $^{33}/451$, h⁻P	4	14	6	43	28	2	5
2. *hort* h⁻p ♀ × $^{33}/451$, h⁻P	3	9	7	78	390	43	56
3. *hortvisc* h⁻p ♀ × $^{33}/451$, h⁻P	16	30	16	53	341	11	21
4. $^{33}/451$, n⁻ ♀ × $^{33}/451$, h⁻P							
5. *hortvisc* n⁻ ♀ × $^{33}/451$, h⁻P	18	72	50	69	802	11	16
6. Selbstungen an $^{33}/451$, h⁻p	1	8	6	75	49	6	7
7. *hortvisc* h⁻p ♀ × $^{33}/451$, h⁻p	14	20	2	10	53	3	26
8. *hortvisc* n⁻ ♀ × $^{33}/451$, h⁻p	14	48	10	21	77	2	8
9. *hortvisc* n˘ ♀ × $^{33}/451$, h⁻P	18	32	3	9	21	0,5	7
10. *hortvisc* n˘ ♀ × $^{33}/451$, h⁻p	18	32	30	94	908	28	30
V. F_1-Familie $^{33}/453$, Bestäubungen 1934—1937							
1. Selbstungen und intraspezifische Bestäubungen an h⁻P-Pflanzen von $^{33}/453$	3	65	61	94	4519	70	74
2. *hort* h⁻p ♀ × $^{33}/453$, h⁻P	4	8	7	88	572	72	82
3. *hortvisc* h⁻ ♀ × $^{33}/453$, h⁻P	18	49	39	80	2402	49	62
4. $^{33}/453$, n⁻ ♀ × $^{33}/453$, h⁻P	4	11	9	82	669	61	74
5. *hort* n⁻ ♀ × $^{33}/453$, h⁻P	3	12	11	92	716	60	65
6. *hortvisc* n⁻ ♀ × $^{33}/453$, h⁻P	6	33	24	73	544	16	23
7. Selbstungen an $^{33}/453$, h⁻p	1	6	2	33	35	6	18
8. $^{33}/453$, n⁻ ♀ × $^{33}/453$, h⁻p	3	11	1	9	32	3	32
9. *hort* n⁻ ♀ × $^{33}/453$, h⁻p	1	2	1	50	22	11	22
10. *hortvisc* n⁻ ♀ × $^{33}/453$, h⁻p	3	11	2	18	27	2,5	13,5

kommenschaften aus Selbstungen und Rückkreuzungen an und mit *hort-* und *hortvisc*-Langgriffeln erschlossen worden.

a) Zur genetischen Analyse von $^{25}/826$, 2 h⁻ P.

An und mit $^{25}/826$, 2 h⁻ P haben die in Tabelle 3 unter a) aufgeführten Bestäubungen Erfolg gehabt. Zur Keimung ausgelegt wurden leider nur 5 der 7 Samenproben. Das Resultat war bescheiden. Von den 11 Samen aus einer Selbstbestäubung an $^{25}/826$, 2 h⁻P keimten 4, dagegen konnte keine Pflanze bis zum Blühen aufgezogen werden. Aus den 17 Samen von 3 Früchten nach „legitimer" Fremdbestäubung mit dem großen Pollen eines h˘ P-Kurzgriffels wurde eine blühende Pflanze, 1 h⁻-Griffel, erhalten.

Die 24 Samen aus 3 Früchten der Bestäubung *hortvisc* ^{25}/794, 2 n$^-$ × ^{25}/826, 2 h$^-$ P wurden als ^{27}/1162 zur Keimung ausgelegt. Die Zahl der keimenden Samen war 22, 14 Pflanzen kamen zum Blühen, alle waren h$^-$. Von 8 dieser Pflanzen sind insgesamt 35 Blüten der Blühjahre 1927—1929 ausgemessen worden. Die Stempellängen waren durchschnittlich 10,1 mm, der Abstand der Antherenscheitel von der Stempelbasis 11,1 mm; der Narbenscheitel fand sich also durchschnittlich 1 mm unter dem Antherenscheitel, d. h. er war direkt von den Antheren umschlossen.

Aus der Entstehung der Familie ^{25}/826 ist für 2 h$^-$ der Genotypus *gAp/gAP* erschlossen worden. Aus seiner Kreuzung mit einem normalen Langgriffel sind nun der Erwartung gemäß ausschließlich Langgriffel mit hochstehenden Antheren erhalten worden. Je die Hälfte derselben war h$^-$ P und h$^-$ p.

b) Genetische Analyse von ^{25}/826, 4 h$^-$ P.

An und mit ^{25}/826, 4 h$^-$ P sind die in Tabelle 3 unter b) aufgeführten Bestäubungen vorgenommen worden.

Von den 7 Samenproben sind wieder nur 5 zur Aussaat gekommen und nur 4 ergaben blühende Pflanzen. Aus den 19 Samen der Selbstungen an ^{25}/826, 4 h$^-$ P wurde eine blühende Pflanze, 1 h$^-$, erhalten;

Tabelle 3. *Bestäubungen an und mit ^{25}/826, 2 und 4 h$^-$ P, sowie 6 und 7 h$^-$ p.*

Versuchsjahr	Bestäubungsmodus ♀	Bestäubungsmodus ♂	Bestäubte Blüten	Samenhaltige Früchte	Samen
		a) ^{25}/826, 2 h$^-$P			
1926	^{25}/826, 2 h$^-$P	selbstbestäubt	1	1	11
1926	^{25}/826, 2 h$^-$P	^{24}/658, 7 h$^-$P	4	3	17
1926	^{25}/794, 2 n$^-$	^{25}/826, 2 h$^-$P	3	3	24
1926	^{25}/794, 21 n$^-$	^{25}/826, 2 h$^-$P	5	3	23
1927	^{25}/794, 9 n$^-$	^{25}/826, 2 h$^-$P	5	2	21
1926	*hort* ^{23}/580, 83 n$^-$	^{25}/826, 2 h$^-$P	4	2	40
1928	*hort* ^{23}/582, 135 n$^-$	^{25}/826, 2 h$^-$P	4	3	30
1928	*hortvisc* ^{27}/1160, 7 n$^-$	^{25}/826, 2 h$^-$P	2	1	16
		b) ^{25}/826, 4 h$^-$P			
1926	^{25}/826, 4 h$^-$P	selbstbestäubt	2	1	19
1927	^{25}/826, 4 h$^-$P	selbstbestäubt	8	7	86
1926	^{25}/826, 4 h$^-$P	^{24}/657, 2 n^v	3	3	45
1927	^{25}/826, 4 h$^-$P	^{25}/792, 1 n^v	6	1	18
1926	^{25}/792, 8 n$^-$	^{25}/826, 4 h$^-$P	4	4	43
1928	^{23}/580, 1 n$^-$	^{25}/826, 4 h$^-$P	10	2	40
1926	^{23}/580, 83 n$^-$	^{25}/826, 4 h$^-$P	2	2	40
		c) ^{25}/826, 6 und 7 h$^-$p			
1926	^{25}/826, 6 h$^-$p	^{25}/794, 22 n^v	3	1	16
1926	^{25}/826, 7 h$^-$p	selbstbestäubt	3	—	—
1926	^{25}/786, 1 n$^-$	^{25}/826, 7 h$^-$p	4	—	—
1926	^{25}/786, 2 n$^-$	^{25}/826, 7 h$^-$p	3	1	2
1926	^{25}/786, 7 n$^-$	^{25}/826, 7 h$^-$p	3	—	—

1 n$^{\smile}$- und 1 h$^-$-Pflanze gingen aus der Aussaat der 45 Samen der Bestäubung ^{25}/826, 4 h$^-$ P × ^{24}/657, 2 n$^{\smile}$ hervor. Von den 18 Samen aus ^{25}/826, 4 h$^-$ P × ^{25}/792, 1 n$^{\smile}$ keimte ein einziger, doch ging der Keimling vor dem Blühen ein. So verblieben für die genetische Analyse nur die beiden Fruchtfamilien ^{27}/1159 aus F_1 *hortvisc* ^{25}/792, 8 n$^-$ ♀ × ^{25}/826, 4 h$^-$ P ♂ mit 9 n$^-$- und 9 h$^-$-Pflanzen und Familie ^{27}/1174 aus *hort* ^{23}/580, 83 n$^-$ ♀ × ^{25}/826, 4 h$^-$ P ♂ mit 12 n$^-$- und 11 h$^-$-Pflanzen. Die beiden Familien sind, abgesehen von dem genealogischen Unterschied der Mutterpflanzen, durchaus gleichwertig. Es mag daher genügen, wenn sich die Analyse auf eine der beiden beschränkt.

Von 6 n$^-$- und 6 h$^-$-Griffeln von ^{27}/1159 sind je 20 Blüten der Blühjahre 1928 bis 1930 ausgemessen worden. Nur die auf Antherenstellung und Stempellänge bezüglichen Mittelwerte der Maße seien miteinander verglichen.

	Stempellänge	Antherenscheitel über der Stempelbasis	Narben/Antherenabstand
n$^-$-Blüten . . .	10,0	4,3	5,7
h$^-$-Blüten . . .	8,2	10,4	−2,2

Die h$^-$-Griffel sind typische Langgriffel; der den n$^-$-Blüten nachstehende Mittelwert der Stempellängen rührt davon her, daß von den fixierten Blüten des ersten Blühjahres 7 relativ kurze Stempel aufwiesen. Mit ihrer etwas zu geringen Stempellänge war aber eine normale Hochstellung der Antheren verbunden, so daß in diesen Blüten die Antheren die Narbenscheitel um 3—4,5 mm überragten. Die ausgemessenen h$^-$-Pflanzen wiesen durchaus großen, die n$^-$-Blüten in den tiefstehenden Antheren dagegen typisch kleinen Pollen auf.

c) Genetische Analyse der kleinpolligen F_1-Bastarde ^{25}/826, 6 und 7 h$^-$ p. Nur für die Pflanze 6 h$^-$ ist der Pollen ausgemessen worden, der p-Typus von 7 h$^-$ ist dagegen ausschließlich aus dem Effekt der mit seinem Pollen vorgenommenen Bestäubungen und seiner Nachkommenschaft indirekt erschlossen worden. Die Resultate der vorgenommenen Bestäubungen sind in Tabelle 3 unter c) zusammengestellt.

Nur in 2 der 5 Bestäubungskombinationen sind Samen erhalten worden. Sie wurden nicht zur Keimung ausgelegt; wichtige Aufschlüsse wären aus denselben kaum zu erwarten gewesen. Die Kombination eines kleinpolligen h$^-$-Griffels von ^{25}/826 mit einem normalen Kurzgriffel als Pollenspender wäre im Resultat wohl identisch gewesen mit den Resultaten der Bestäubungen zwischen *hort* h$^-$ und n$^{\smile}$, die Aufspaltung in 3 Phänotypen und 4 verschiedene Genotypen bei der geringen Samenzahl und dem nicht sehr großen Keimvermögen der nur 16 Samen kaum in Erscheinung getreten. Noch weniger war ein solches Resultat von der Keimung der 2 Samen aus der Bestäubung an ^{25}/786, 2 n$^-$ zu erwarten.

So beruht die genetische Analyse von $^{25}/826$ also ausschließlich auf der Zusammensetzung der Nachkommenschaften der beiden großpolligen Pflanzen 2 und 4 h^-. Sie aber erbringen mit aller Deutlichkeit den Nachweis, daß die vom väterlichen *viscosa*-Elter auf die *hortvisc* F_1-Familie übertragene Großpolligkeit in verschiedenen Bestäubungskombinationen in Verbindung mit Langgriffligkeit und hoher Antherenstellung auch in weitere Generationen vererbt wird.

IV. Morphologische, physiologische und genetische Analyse der F_1-Familie $^{33}/451$.

Die F_1-Fruchtfamilie $^{33}/451$ aus der Elternkombination *hort* $^{23}/582$, 1 $h^- \times$ *visc* 299 h^- ist 1938 (Tabelle 85, S. 232) mit 3 noch nicht blühenden Pflanzen und 7 n^-- und 26 h^--Griffeln aufgeführt. Von den drei 1937 noch nicht blühenden Pflanzen ist später noch eine als Langgriffel zum Blühen gekommen, so daß die endgültige Familienanalyse 8 n^-- und 26 h^--Pflanzen zu verzeichnen hat.

1. Die Ausprägung der Heterostylie-Merkmale in $^{33}/451$.

Die 3 Phänotypen sind, wie bereits 1938 eingehend beschrieben worden ist und durch Abb. 5 erneut belegt wird, mit aller Schärfe voneinander zu unterscheiden. Die mittlere Länge der Stempel (1938, Tabelle 135—137, S. 336/337) ist für n^- (aus 25 Messungen) 11,30 mm, für h^-p (aus 35 Messungen) 10,87 mm und für h^-P (aus 50 Messungen) 9,29 mm.

Der Narbenabstand von den Antheren beträgt für n^- 6,22 mm, für h^-P —2,38 mm und für h^-p —0,23 mm. Die Antherenscheitel sind bei n^- durchschnittlich 5,08 mm, bei h^-p 11,10 mm und bei h^-P 11,67 mm über der Stempelbasis.

Durchaus entsprechende Unterschiede sind in der Größe der Pollenkörner der 3 Phänotypen zur Feststellung gelangt. Für die h^-P-Griffel z. B. beträgt (1938, Tabelle 142, S. 347) der Gesamtmittelwert für je 100 Pollenkörner von 12 Pflanzen 10,71 Teilstriche, der Gesamtmittelwert für je 100 Messungen an 6 h^-p-Pflanzen 7,93 und derjenige für 6 n^--Pflanzen 7,53 Teilstriche.

Die 3 Phänotypen von $^{33}/451$ zeigen im Verhältnis ihrer Pollenkorngrößen eine erstaunliche Übereinstimmung mit den 1933 aus Messungen an den 3 Phänotypen von *hort* $^{23}/585$ festgestellten Mittelwerten (1936a, S. 94). Die zu vergleichenden Zahlen sind:

hort $^{23}/585$ $n^- : h^- : n^{\smile} = 7{,}37 : 7{,}74 : 10{,}60 = 70 : 73 : 100$,

hortvisc $^{33}/451$ $n^- : h^-p : h^-P = 7{,}53 : 7{,}93 : 10{,}71 = 70 : 74 : 100$.

Zwischen dem Pollen der n^-- und h^-p-Pflanzen der F_1-Bastardfamilien sind damit Größenunterschiede gleicher Ordnung festgestellt, wie sie auch für den Pollen von n^- und h^- der *hort* F_2-Familien $^{23}/582$ und

585 usw. charakteristisch sind. Die *visc* 299 h⁻P-Pflanze hat also ihre Fähigkeit zur Bildung des großen Pollens (der n⁻ und h⁻ fertil bestäubt) auf die Hälfte der F_1-Bastarde bzw. auf $^2/_3$ aller h⁻-Griffel übertragen.

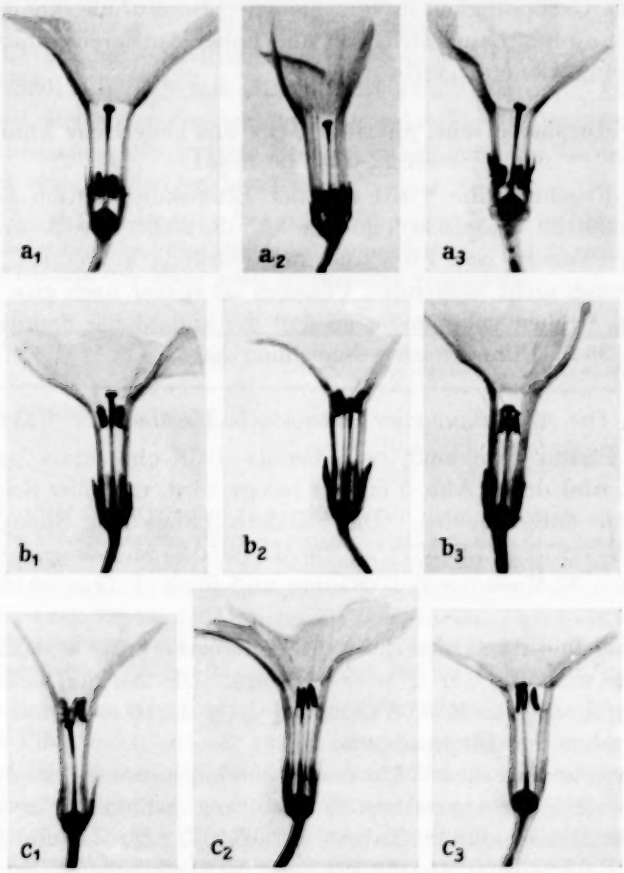


Abb. 5 a—c. Die 3 Kombinationen der Heterostylie-Merkmale (n⁻p, h⁻p, h⁻P) in der F_1-Bastard-Fruchtfamilie [33]/451 (aus *hort* [33]/582, 1 h⁻p × *visc* 299 h⁻P ♂); a Längshalbierte Blüten von 3 verschiedenen n⁻-Pflanzen [[33]/451, 12⁻ (a_1), 30⁻ (a_2) und 33⁻ (a_3). Blüten vom Frühjahr 1936; Phot. [36]/51—53]. b Längshalbierte Blüten von 3 verschiedenen h⁻p-Pflanzen [[33]/451, 7 h⁻p (b_1), 24 h⁻p (b_2) und 32 h⁻p (b_3). Blüten von 1936; Phot. [36]/54, 56, 57]. c Längshälften von Blüten von 3 verschiedenen h⁻P-Pflanzen [[33]/451, 15 h⁻P (c_1), 19 h⁻P (c_2) und 27 h⁻P (c_3). Blüten von 1936; Phot. [36]/59—61].

2. Bestäubungen an und mit h⁻P- und h⁻p-Pflanzen von [33]/451.

Von den 10 Bestäubungskombinationen (vgl. Tabelle 2 unter IV) an und mit den h⁻-Griffeln von [33]/451 sind deren 5 Bestäubungen an *hort* und *hortvisc* n⁻ und h⁻ mit dem großen Pollen von [33]/451, h⁻P. Die Zahl der bestäubten Blüten variiert in diesen Kombinationen von 9—72, der Fruchtansatz ist 6—50%, die mittlere Samenzahl pro Frucht 5—56.

Die Zahl der in diese Versuche eingestellten Pflanzen war sehr viel größer als in Tabelle 2, IV angegeben ist. Viele Versuchspflanzen, vor allem die 3 Phänotypen der Familie $^{33}/451$ selbst haben gar kein Resultat geliefert. Ihre Blütenstände sind kürzere oder längere Zeit nach den Bestäubungen, bevor eine sichere Bestimmung des Frucht- und Samenansatzes möglich war, abgestorben.

Aus demselben Grunde blieben die Selbstungen an den 6 h^- p-Versuchspflanzen von $^{33}/451$ auf ein einziges positives Ergebnis beschränkt. Für die 20 bzw. 48 Bestäubungen an *hortvisc* h^-- und n^--Pflanzen betrug die Zahl der erhaltenen Früchte 10 bzw. 21% der Bestäubungen. Die mittleren Samenzahlen pro Bestäubung sind 2 und 3, pro Frucht allerdings 8 und 21.

Besonders deutlich treten die Unterschiede im Bestäubungseffekt des P- und p-Pollens aus der Vergleichung der Resultate beider Bestäubungen an denselben Samenpflanzen (vgl. Tabelle 4, 1. und 2.) in Erscheinung[1]. An 14 Langgriffeln gaben 48 mit p-Pollen bestäubte Blüten 10 Früchte mit 77 Samen, 61 Blüten nach Bestäubung mit P-Pollen dagegen 42 Früchte mit 454 Samen.

Noch auffälliger sind die Unterschiede in den Resultaten der Bestäubungen an *hort*- und *hortvisc* h^--Pflanzen. Nach 19 Bestäubungen mit p-Pollen wurde nur eine Frucht mit 6 Samen erhalten, während 33 Bestäubungen mit P-Pollen 23 Früchte mit 768 Samen produzierten. Der große Pollen von $^{33}/451$ h^- P-Pflanzen löste auf n^-- und h^--Pflanzen eine ungleich bessere Frucht- und Samenbildung aus als der h^- p-Pollen.

Die verschiedene Wirksamkeit des P- und p-Pollens der beiden h^--Typen von $^{33}/451$ ist auch in Bestäubungen an *Kurz*griffeln erprobt worden. An 16 Kurzgriffeln der *hortvisc* F_4 Familie $^{33}/492$[2] sind Selbstungen und Bestäubungen mit h^- P und h^- p von $^{33}/451$ vorgenommen worden. Die Resultate sind (vgl. Tabelle 5) um so aufschlußreicher und

[1] Die Fruchtfamilien $^{33}/424$, 425, 426, 427 und 440 sind aus Bestäubungen *hort* $^{23}/585$ h^- und n^- ♀ × *visc* $h^\smile$ P hervorgegangen. Ihre Zusammensetzung war:

$^{33}/424$: 17 $n^\smile$: 13 $h^\smile$: 19 n^- : 18 h^-
$^{33}/427$: 12 $n^\smile$: 16 $h^\smile$: 12 n^- : 12 h^-
$^{33}/425$: 29 $h^\smile$: 30 n^-
$^{33}/426$: 28 $h^\smile$: 36 n^-
$^{33}/440$: 11 $n^\smile$: 13 n^-

Die Fruchtfamilie $^{33}/455$ geht auf eine Bestäubung *hort* $^{23}/585$ n^- ♀ × *visc* 446 h^- P zurück und setzte sich aus 4 n^- und 6 h^- zusammen.

Die Fruchtfamilie $^{31}/106$ entstand aus Bestäubungen an F_4 $^{29}/1696$ n^- × $^{29}/1715$, 8 $n^\smile$ (Genotypus: *GaP/gAp*) und bestand aus 18 $h^\smile$-, 1 n^-- und 146 h^--Pflanzen.

[2] Die F_4-Fruchtfamilie $^{33}/492$ ist aus der Kombination $^{29}/1715$, 18 $n^\smile$ ♀ × $^{29}/1696$, 77 n^- ♂ hervorgegangen ($^{29}/1715$, 18 $n^\smile$ war *gap/GAP*). Vier Früchte brachten 395 Samen. Die Zahl der Keimlinge war 264, die Zahl der blühenden Pflanzen 221, die Zusammensetzung der Familie: 118 $n^\smile$, 103 n^-.

Tabelle 4. *Bestäubungen an hort und hortvisc n⁻- und h⁻-Pflanzen mit Pollen von h⁻P- und h⁻p-Pflanzen aus [33]/451.*

	Selbstbestäubung			× [33]/451, h⁻p 32, 37, 24			× [33]/451, h⁻P 23, 27, 11, 18, 34, 15		
	Zahl der			Zahl der			Zahl der		
	Blüten	Früchte	Samen	Blüten	Früchte	Samen	Blüten	Früchte	Samen
1. Bestäubungen an n⁻-Griffeln									
[33]/420c, 37 n⁻				3	—	—	4	2	7
[33]/424b, 83 n⁻				1	—	—	5	5	60
[33]/424b, 62 n⁻				7	—	—	7	2	16
[33]/425b, 30 n⁻				3	3	19	3	3	48
[33]/425b, 26 n⁻				6	—	—	6	6	52
[33]/426b, 17 n⁻				3	—	—	5	2	5
[33]/426b, 51 n⁻				3	—	—	3	3	20
[33]/426b, 43 n⁻				3	—	—	5	1	5
[33]/426b, 31 n⁻				3	3	14	4	4	61
[33]/455, 6 n⁻				6	—	—	5	1	7
[33]/440, 4 n⁻				4	3	25	5	5	85
[33]/440, 11 n⁻				2	—	—	3	3	47
[33]/440, 10 n⁻				3	—	—	4	3	8
[33]/492, 12 n⁻				1	1	19	2	2	33
				48	10	77	61	42	454
2. Bestäubungen an h⁻Griffeln									
[23]/580, 80 h⁻							3	3	228
[23]/582, 93 h⁻							3	3	97
[23]/585, 194 h⁻							3	1	65
[31]/106, 8 h⁻				1	—	—	1	1	29
[31]/106, 7 h⁻	2	—	—	2	—	—	2	1	23
[31]/106, 25 h⁻				1	—	—	1	1	47
[31]/106, 32 h⁻	1	—	—	2	—	—	2	1	26
[31]/106, 55 h⁻	2	1	8	1	—	—	1	—	—
[31]/106, 74 h⁻	2	1	9	1	—	—			
[31]/106, 72 h⁻	4	2	42	2	—	—			
[31]/106, 78 h⁻	3	2	23	2	—	—			
[31]/106, 81 h⁻	2	—	—	1	—	—	2	2	50
[33]/424b, 42 h⁻							2	1	12
[33]/424b, 39 h⁻							2	2	32
[33]/427a, 1 h⁻							2	1	9
[33]/427b, 52 h⁻							3	1	2
[35]/1661, 60 h⁻				2	1	6	2	2	70
[35]/1661, 66 h⁻				1	—	—	1	1	17
[35]/1663, 8 h⁻				1	—	—	2	1	46
[35]/1663, 11 h⁻				2	—	—	1	1	15
	16	6	82	19	1	6	33	23	768

in jeder Hinsicht eindeutig, da zu den Fremdbestäubungen an den Samenpflanzen ausschließlich Pollen desselben h⁻p- und h⁻P-Griffels verwendet wurde und von den meisten Probanden Resultate von Selbstbestäubungen vorliegen. Aus dieser Übersicht geht deutlich hervor, *daß die Kurzgriffel von [33]/492 inkompatibel sind für den eigenen Pollen, noch viel mehr aber für denjenigen von [33]/451 h⁻P. Von den mit h⁻p-Pollen*

belegten 30 Blüten dagegen setzten nicht weniger als 28 an, mit dem für *hortvisc*-Bastarde ansehnlichen Mittel von 30 Samen pro Frucht.

Der Beweis, daß der große Pollen der h⁻P-Pflanzen nicht nur morphologisch, sondern auch physiologisch demjenigen normaler Kurzgriffel, der kleine Pollen von h⁻p von ^{33}/451 demjenigen normaler Langgriffel mit tiefstehenden Antheren durchaus gleichwertig ist, ist wohl für die F_1-Familie ^{33}/451 mit besonderer Eindringlichkeit erbracht.

Tabelle 5. *Bestäubungen an n$^{\smile}$P-Pflanzen der F_4-Familie ^{33}/492 mit Pollen von ^{33}/451 h⁻p und h⁻P.*

	Selbstbestäubung			× ^{33}/451, 16 h⁻p			× ^{33}/451, 29 h⁻P		
	Zahl der			Zahl der			Zahl der		
	Blüten	Früchte	Samen	Blüten	Früchte	Samen	Blüten	Früchte	Samen
^{33}/492, 4 n$^{\smile}$	1	1	20	2	1	48	2	2	12
^{33}/492, 7 n$^{\smile}$	2	2	40	2	2	52	2	—	—
^{33}/492, 10 n$^{\smile}$	1	—	—	2	2	35	1	—	—
^{33}/492, 27 n$^{\smile}$	1	1	14	2	2	51	2	—	—
^{33}/492, 34 n$^{\smile}$	1	1	45	1	1	84	2	—	—
^{33}/492, 51 n$^{\smile}$	2	2	5	2	2	118	2	1	2
^{33}/492, 66 n$^{\smile}$	1	—	—	4	4	45	3	—	—
^{33}/492, 72 n$^{\smile}$	—	—	—	2	2	103	3	—	—
^{33}/492, 77 n$^{\smile}$	1	—	—	1	1	28	2	—	—
^{33}/492, 91 n$^{\smile}$	—	—	—	1	1	53	1	—	—
^{33}/492, 103 n$^{\smile}$	4	—	—	4	4	78	2	—	—
^{33}/492, 137 n$^{\smile}$	—	—	—	2	1	14	2	—	—
^{33}/492, 144 n$^{\smile}$	1	1	50	1	1	55	2	2	7
^{33}/492, 151 n$^{\smile}$	1	1	11	1	1	48	1	—	—
^{33}/492, 163 n$^{\smile}$	1	1	9	2	2	23	2	—	—
^{33}/492, 223 n$^{\smile}$	—	—	—	1	1	13	1	—	—
	17	10	194	30	28	848	30	5	21

3. Die Nachkommenschaften aus den Bestäubungen an und mit dem h⁻P- und h⁻p-Typus von ^{33}/451.

Den reichen Ergebnissen der Analyse von ^{33}/451 für das Fertilitätsproblem entsprechen in keiner Weise die genetischen Aufschlüsse. Eine Reihe mißlicher Umstände haben die Zahl der Fruchtfamilien mit blühenden Pflanzen auf 8 reduziert und auch diese tragen zur Lösung der in Frage stehenden Vererbungsvorgänge nur wenig bei. Für ^{33}/451, 11 h⁻, 18 h⁻ und 34 h⁻ dürfte auf Grund der spärlichen Nachkommenschaft (vgl. Tabelle 6) die Zugehörigkeit zum *gap/gAP*-Typus wenigstens wahrscheinlich sein. Für alle 3 Pflanzen ist nachgewiesen, daß in ihrer Nachkommenschaft n⁻- und h⁻-Individuen vorhanden sind. Für die ^{33}/451, 19 h⁻P ist eine Aussage deswegen unmöglich, da der einzige zum Blühen gelangte Nachkomme h⁻ ist. Unerklärt bleibt das Auftreten von 5 sicher als *Kurz*griffel bestimmter Pflanzen in 3 der 6 Fruchtfamilien.

Tabelle 6. *Die Nachkommenschaften aus den Bestäubungen mit Pollen von* $^{33}/451$, *h⁻P und h⁻p.*

Aussaat Nr.	Bestäubungsmodus ♀	Bestäubungsmodus ♂	Bestäubte Blüten	Samenhaltige Früchte	Samen	Blühende Pflanzen: Gesamtzahl	n˘	h˘	n⁻	h⁻
$^{36}/1997$	$^{23}/580$, 80 h⁻	$^{33}/451$, 11 h⁻P	3	3	228	30	1	—	9	20
$^{36}/2002$	$^{33}/424$b, 42 h⁻	$^{33}/451$, 11 h⁻P	2	2	12	1	—	—	1	—
$^{36}/2003$	$^{33}/424$b, 39 h⁻	$^{33}/451$, 11 h⁻P	2	2	32	—	—	—	—	—
$^{36}/2001$	$^{33}/427$a, 1 h⁻	$^{33}/451$, 19 h⁻P	1	1	9	1	—	—	—	1
$^{37}/48$	$^{33}/424$b, 83 und 62 n⁻	$^{33}/451$, 11 h⁻P	7	7	76	2	2	—	—	—
$^{37}/49$	$^{33}/425$b, 26 und 30 n⁻	$^{33}/451$, 18 h⁻P	9	9	100	10	2	—	5	3
$^{37}/50$	$^{33}/440$, 4, 10 und 11 n⁻	$^{33}/451$, 34 h⁻P	11	11	140	9	—	—	3	6
$^{37}/41$	$^{33}/492$, 4, 7 und 21 n˘	$^{33}/451$, 16 h⁻p	10	10	372	87	33	—	20	34

Der einzige Lichtblick in dem in Tabelle 6 zusammengefaßten Material ist die Fruchtfamilie $^{37}/41$ aus der Bestäubung eines Kurzgriffels mit einem der 6 h⁻p-Langgriffel von $^{33}/451$.

Ihre Zusammensetzung aus 33 n˘, 20 n⁻ und 34 h⁻ macht eine sorgfältige Analyse der Elternkombination notwendig. Die Familie der Samenträger $^{33}/492$, 4 n˘, 7 n˘, 21 n˘ ist aus der Elternkombination $^{29}/1715$, 18 n˘ ♀ × $^{29}/1696$, 77 n⁻ ♂ hervorgegangen. Über die F_4-Familie $^{29}/1696$ sind keine weiteren Aszendentien notwendig, da von ihr nur normale Langgriffel Verwendung gefunden haben. Anders liegen die Verhältnisse für den Samenträger $^{29}/1715$, 18 n˘. In der F_4-Familie $^{29}/1715$ sind nämlich nicht weniger als 3 verschiedene Kurzgriffel-Genotypen vorhanden. $^{29}/1715$, 18 n˘ hat, wie einer andernorts zu publizierenden ausführlichen Zusammenstellung zu entnehmen ist, den „Normal"-Genotypus *gap/GAP*. Der h⁻p-Langgriffel $^{31}/451$, 16 h⁻p ist *gap/gAp*. Aus der Kreuzung der beiden Eltern, *gap/GAP* × *gap/gAp*, gehen hervor:

gap/gap = n⁻
GAP/gap = n˘
gap/gAp = h⁻p
GAP/gAp = n˘.

Bei einer Gesamtzahl von 87 blühenden Pflanzen entsprechen die 3 Phänotypen zahlenmäßig nicht völlig der Erwartung. Die Zahl der Kurzgriffel ist zu klein, diejenige der h⁻-Pflanzen — wie übrigens in sehr vielen anderen, ähnlichen Elternkombinationen — zu groß. Doch ist an der Zugehörigkeit der Pflanze $^{33}/451$, 16 h⁻ zum p-Typus nicht wohl zu zweifeln und damit wenigstens für den einen der beiden h⁻-Typen von $^{33}/451$ der Erbgang und damit der Kombinationstypus der Heterostylie-Merkmale erklärt.

V. Morphologische, physiologische und genetische Analyse der F_1-Familie $^{33}/453$ a und b.

Die aus der Bestäubung *hort* $^{23}/585$, 222 h⁻ × *visc* 446 h⁻ hervorgegangene Fruchtfamilie $^{33}/453$ wies mit ihrer Zusammensetzung, 5 n⁻- und 4 h⁻-Pflanzen, in Anbetracht der zu erwartenden Aufspaltung

(1 n^- : 1 h^-p : 2 h^-P) ersichtlich ein Manko an h^--Pflanzen auf. Sie ist aber deswegen als besonders wichtig betrachtet worden, weil 8 der 9 Pflanzen, im Gegensatz zu allen anderen bis 1937 analysierten F_1-Bastardfamilien aus den interspezifischen Bestäubungen zwischen *Pr. hortensis* und *Pr. viscosa*, im Phänotypus ihrer Blüten *nicht den starken Einfluß der Wildart* erkennen ließen, sondern fast den reinen *hortensis*-Typus aufwiesen. Da die Fertilität der ± intermediären F_1-Bastarde bedeutend geringer ist als diejenige des *hortensis*-Elter, durfte gehofft werden, daß die *hortensis*-ähnlichen Bastarde ebenfalls eine erhöhte Fertilität aufweisen würden.

1. Die Ausprägung der Heterostylie-Merkmale an n^-- und h^--Pflanzen von $^{33}/_{453}$.

Die Blütenplastik der n^-- und h^--Griffel von $^{33}/_{453}$ ist bereits 1938 eingehend beschrieben worden. Es dürfte genügen, hier nochmals an die Länge der Griffel, die Antherenstellung und die Größe der Pollenkörner zu erinnern und auf die Blüten in Abb. 6 zu verweisen.

Die mittlere Stempellänge von 10 ausgemessenen Blüten des *viscosa*-ähnlichen Langgriffels (1938, Tabelle 140, S. 340) war 10,15 mm, diejenige für 18 Blüten von 3 *hortensis*-ähnlichen n^--Pflanzen 9,67 mm, für die 7 Blüten einer h^-p-Pflanze 9,64 und schließlich für 14 Blüten von 3 h^-P-Pflanzen 9,11 mm. Die *viscosa*-ähnlichen Blüten von $^{33}/_{453}$, 6 n^- übertrafen also in der Stempellänge alle *hortensis*-ähnlichen Langgriffel. An den h^--Pflanzen, insbesondere bei h^-P, ist der Narben/Antherenabstand bei überragender Stellung der Antheren in einem Teil der Blüten größer als bei dem entsprechenden Phänotypus in $^{33}/_{451}$. Trotz der relativ großen negativen Werte des Narben/Antherenabstandes ist aber eine Zuordnung dieser Blüten zum $n^{\smile}$-Typus völlig ausgeschlossen: ihr Stempel ist immer noch doppelt so lang wie derjenige von $n^{\smile}$-Griffeln verwandter Familien. Sie kombinieren trotz der Differenz in Narben- und Antherenstellung eben doch einen *langen* Griffel mit der *hohen* Antherenstellung von Kurzgriffeln.

Von den 4 h^--Pflanzen von $^{33}/_{453}$ ist einer h^-p, die 3 anderen sind h^-P. Der Mittelwert der Pollenkorndurchmesser ist für $^{33}/_{453}$a, 1 h^-p 8,74, für die 500 Pollenkörner der 5 n^--Pflanzen 7,56 und für die 3 h^-P-Pflanzen 10,44 Teilstriche im Okularmikrometer (vgl. 1938, Tab. 144, S. 348).

Die Pollenkorngröße des einen h^-p-Griffels übertraf etwas die Erwartung. Für die 5 n^--Pflanzen dagegen stimmten die Variationsbreiten der Mittelwerte der Hundertschaften und der Gesamtmittelwert völlig mit denjenigen der n^--Pflanzen von $^{33}/_{451}$ und verwandter Familien aus Bestäubungen *hort* $n^- \times$ *visc* h^- überein. Dieselbe Übereinstimmung ist gefunden worden für die Einzel- und Gesamtmittelwerte der h^-P-Pflanzen. Die beiden für den h^-p-Griffel gefundenen Werte, 8,85 Teilstriche aus Messungen von 1935 und 8,63 aus 100 Messungen von

1936 und ihr Mittelwert 8,74, charakterisieren diese Pflanze, verglichen mit den h⁻p-Pflanzen von ³³/451, als Plus-Variante. Zweifellos wären in einer zahlreicheren Nachkommenschaft auch h⁻p-Pflanzen mit geringeren Mittelwerten zu erwarten gewesen. Daß übrigens ³³/453a, 1 h⁻ trotzdem *klein*pollig ist und sich auch physiologisch als kleinpollig verhält, lehren die an und mit den h⁻-Pflanzen von ³³/453 durchgeführten Bestäubungen.

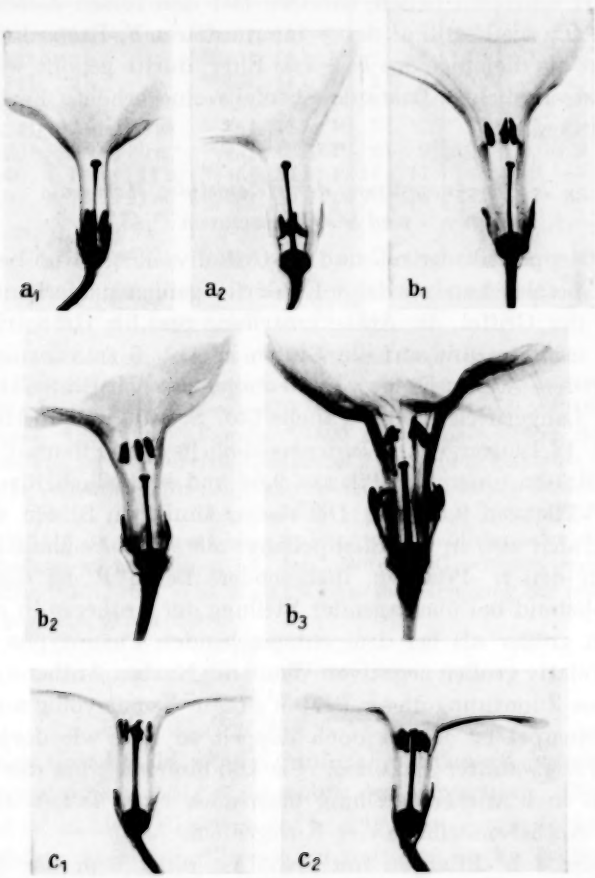


Abb. 6 a—c. Die 3 Kombinationen der Heterostylie-Merkmale (n⁻p, h⁻p und h⁻P) in der F_1-Bastard-Fruchtfamilie ³³/453 (aus der Elternkombination *hort* ²³/585, 232 h⁻p ♀ × *visc* 446 h⁻P ♂); a Längshälften von n⁻-Blüten [Pflanzen ³³/453a, 6⁻(a_1) und ³³/453b, 4⁻(a_2). Blüten 1935 und 1936 fixiert; Phot. ³⁶/64—66]. b Längshälften von Blüten der 3 zu Bestäubungen benutzten h⁻P-Pflanzen (b_1: ³³/453a, 3 h⁻P; b_2: ³³/453b, 1 h⁻P und b_3: ³³/453a, 5 h⁻P; Blüten von 1935; Phot. ³⁶/67—69). c Längshälften von 2 Blüten der homostyl-kleinpolligen Pflanze ³³/453a, 1 h⁻p. Blüten c_1 und c_2 von 1935; Phot. ³⁶/66.

2. Die Bestäubungen an und mit den h⁻p- und h⁻P-Pflanzen von ³³/453.

Die an den *hortensis*-ähnlichen Habitus geknüpften Hoffnungen hinsichtlich erhöhter Fertilitätsgrade der h⁻-Pflanzen von ³³/453 sind durchaus in Erfüllung gegangen. Die in Tabelle 2 unter V, 1—6 zusammen-

gestellten Resultate der Bestäubungskombinationen mit h⁻P-Pflanzen als Pollenlieferanten ergaben Früchte zu 73—94% der Bestäubungen, während in den 4 Kombinationen mit h⁻p-Pollenträgern nur 9—50% der bestäubten Blüten fruchteten. Die Samenzahlen pro Bestäubung waren für die 4 Kombinationen *hortensis* und $^{33}/453$ n⁻ als Samenpflanzen 60—72, für die beiden Kombinationen an anderen *hortvisc*-Samenträgern

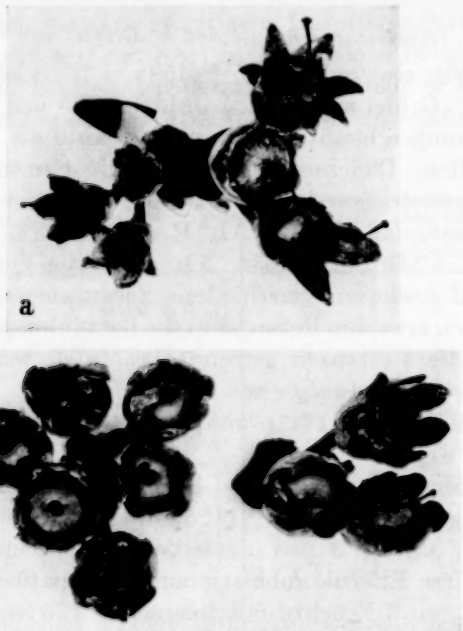


Abb. 7. Fruchtbildung nach legitimer und illegitimer Bestäubung an *hortensis* n⁻ und nach *Selbstungen* an F_1 *hortvisc* $^{33}/453$ h⁻P; a Früchte an $^{22}/585, 316^-$; 3 Blüten bestäubt mit Pollen von *hortvisc* h⁻P (große Früchte), 3 Blüten bestäubt mit Pollen von *hortvisc* h⁻p (kleine Früchte in großen Kelchen); Phot. $^{35}/38$. b Früchte an 2 Blütenständen von $^{33}/453$a, 5 h⁻P nach Selbstbestäubungen; Phot. $^{35}/29$.

16 und 49, für die 4 Kombinationen mit h⁻p als Pollenpflanze dagegen nur 2,5—11. Es erscheint angemessen, die Bestäubungsresultate an und mit den 4 analysierten h⁻-Pflanzen getrennt aufzuführen.

Zunächst sei nur auf den Unterschied in den Resultaten der Selbstbestäubungen an den 4 h⁻-Pflanzen hingewiesen. Die 3 als h⁻P bestimmten Pflanzen haben (vgl. Tabelle 2 unter V, 1) aus Selbstungen an 65 Blüten nicht weniger als 61 Früchte mit insgesamt 4519 Samen, 70 pro Bestäubung und 74 pro samenhaltige Frucht ergeben. Ihre Selbstung ist in der Relation Griffellänge/Pollenkorngröße legitim. An dem einen kleinpolligen h⁻-Griffel $^{33}/453$a, 1 h⁻ blieben dagegen (Tabelle 2 unter V, 7), wie an den h⁻-Griffeln von *Pr. hortensis*, die Resultate der Selbstungen mit 2 Früchten aus 6 bestäubten Blüten, 6 Samen pro

Bestäubung und 18 pro Frucht hinter denjenigen aller legitimen Bestäubungen — sowohl hinsichtlich Frucht- und Samenansatz als auch, wie sich später zeigte, in der Keimkraft der Samen und der Vitalität der Keimlinge — weit zurück. Seiner Selbstung haftete hinsichtlich der Relation Stempellänge/Pollenkorngröße durchaus der Charakter der Illegitimität an.

3. Genetische Analyse der h⁻-Griffel von ^{33}*/453.*

Die 4 h⁻-Pflanzen von ^{33}/453, ^{33}/453a, 1 h⁻, kleinpollig, und die 3 großpolligen h⁻-Griffel sind in den Jahren 1935 und 1936 zu möglichst vielen Bestäubungen benützt worden, doch sind die Resultate sehr ungleich ausgefallen. Gleiches gilt auch für die Samenaussaaten und die Resultate der genetischen Analyse. Da sich während der letzteren überdies ergeben hat, daß ^{33}/453a, 3 h⁻P und ^{33}/453b, 1 h⁻P die Formel *gap/gAP*, dem h⁻-Griffel ^{33}/453a, 5 h⁻ aber die Formel *gAp/gAP* zukommt und infolgedessen verschiedene Zusammensetzungen der Nachkommenschaften erwarten ließen, sind die Bestäubungen und genetischen Analysen für die 4 Pflanzen getrennt behandelt worden.

a) Zur genetischen Analyse von ^{33}*/453a, 1 h⁻p.*

An und mit ^{33}/453a, 1 h⁻p sind die nachfolgenden Bestäubungen vorgenommen worden:

Die Selbstungen von ^{33}/453a, 1 h⁻p in den Jahren 1935 und 1936, die Bestäubungen an *hortensis* ^{26}/1128, 7 h⁻, sowie die Bestäubungen an 6 Langgriffeln, davon 3 aus derselben Fruchtfamilie ^{33}/453, haben gezeigt, daß diese Elternkombinationen inkompatibel sind. 26 Bestäubungen haben nur 7 Früchte mit insgesamt 120 Samen ergeben. Von ihrer Aussaat war nicht viel zu erwarten. Nur eine einzige Aussaat hat blühende Pflanzen geliefert: Fruchtfamilie ^{36}/2043 aus ^{33}/453b, 7 n⁻ × ^{33}/453a, 1 h⁻p ergab aus den 32 Samen 16 Keimlinge und 10 blühende Pflanzen. Davon waren 3 langgrifflig und 7 h⁻. Von dem zu erwar-

Tabelle 7.

Versuchsjahr	Bestäubungsmodus ♀	Bestäubungsmodus ♂	Bestäubte Blüten	Samenhaltige Früchte	Samen
1935	^{33}/453a, 1 h⁻p	selbstbestäubt	2	1	22
1936	^{33}/453a, 1 h⁻p	selbstbestäubt	4	1	13
1935	^{33}/453a, 2 n⁻	^{33}/453a, 1 h⁻p	1	—	—
1935	^{33}/453a, 4 n⁻	^{33}/453a, 1 h⁻p	1	—	—
1935	^{33}/453b, 7 n⁻	^{33}/453a, 1 h⁻p	1	1	32
1936	^{33}/453b, 7 n⁻	^{33}/453a, 1 h⁻p	3	1	5
1935	^{26}/1128, 7 h⁻	^{33}/453a, 1 h⁻p	3	1	21
1935	^{27}/1174, 9 n⁻	^{33}/453a, 1 h⁻p	3	2	27
1935	^{33}/492, 61 n⁻	^{33}/453a, 1 h⁻p	4	—	—
1935	^{33}/492, 65 n⁻	^{33}/453a, 1 h⁻p	4	—	—

tenden Verhältnis 1 n⁻ : 1 h⁻ weicht das Resultat mit einem Überschuß an h⁻-Griffeln (vgl. auch die Nachkommenschaften von ^{33}/453a, 3 h⁻ und ^{33}/453b, 1 h⁻) in Anbetracht der nur kleinen Gesamtzahl wenigstens gleichsinnig wie in den eben genannten Nachkommenschaften ab.

b) Genetische Analyse von ^{33}/453b, 1 h⁻ P.

Die Bestäubungen an und mit ^{33}/453b, 1 h⁻ P haben, verglichen mit ^{33}/453a, 1 h⁻ p, ein demonstrativ günstigeres Resultat geliefert. Der Pollen dieser Pflanze hat sich auf den Narben der eigenen Blüten wie auf den Narben von n⁻- und h⁻-Pflanzen derselben und anderer Fruchtfamilien außerordentlich fertil erwiesen. Die Resultate der Bestäubungen sind:

Tabelle 8.

Versuchsjahr	Bestäubungsmodus ♀	Bestäubungsmodus ♂	Bestäubte Blüten	Samenhaltige Früchte	Samen
1935	^{33}/453b, 1 h⁻P	^{33}/453a, 5 h⁻P	9	8	916
1936	^{33}/453b, 1 h⁻P	selbstbestäubt	11	11	757
1934	^{33}/453b, 1 h⁻P	^{33}/427b, 2 n⁻	3	1	79
1935	^{33}/453a, 2 n⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	1	1	90
1935	^{33}/453a, 4 n⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	1	1	68
1935	^{33}/453b, 7 n⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	2	2	160
1936	^{33}/453b, 7 n⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	4	4	346
1935	^{28}/1292, 56 h⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	1	1	8
1935	^{23}/585, 52 h⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	2	1	39
1936	^{35}/1665, 58 h⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	2	2	100
1936	^{35}/1664, 53 h⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	2	1	7
1936	^{35}/1664, 32 h⁻	^{33}/453b, 1 h⁻P	3	1	24

Nach dem reichlichen Frucht- und Samenansatz konnte man sich auf die Aussaat einiger weniger dieser Samenproben beschränken.

Aus dem Samenmaterial der Bestäubung ^{33}/453b, 1 h⁻P ♀ × ^{33}/453a, 5 h⁻P ging die Fruchtfamilie ^{36}/2041 hervor. Von den 916 Samen aus 8 Früchten keimten nicht weniger als 622; 361 Pflanzen kamen zum Blühen, alle waren h⁻.

Aus dem Samenmaterial aus 11 Selbstbestäubungen an ^{33}/453b, 1 h⁻P wurde die Fruchtfamilie ^{37}/14 aufgezogen. Von den 757 Samen keimten 544; die Zahl der blühenden Nachkommen war 251, davon 23 n⁻ und 228 h⁻. Schließlich sei noch die sehr viel kleinere Fruchtfamilie ^{36}/2036 erwähnt. Das Samenmaterial ist aus einer Bestäubung ^{23}/585, 52 h⁻ × ^{33}/453b, 1 h⁻P hervorgegangen. Von den 39 Samen keimten 37. Alle Keimlinge konnten zu blühenden Pflanzen aufgezogen werden: 2 n⁻ und 35 h⁻.

Diese 3 Ergebnisse sind verständlich auf Grund der Annahme, daß ^{33}/453b, 1 h⁻P die Formel *gap/gAP* und ^{33}/453a, 5 h⁻ die Formel *gAp/gAP* zukommt. Aus den Bestäubungen zwischen den beiden h⁻P-Pflanzen

müssen ausschließlich h⁻-Pflanzen hervorgehen, während aus der Selbstung von $^{33}/453$b, 1 h⁻P und ebenso aus den Bestäubungen an n⁻- und h⁻-Pflanzen anderer Fruchtfamilien $^1/_4$ n⁻ und nur $^3/_4$ h⁻ zu erwarten sind.

Dieser Erwartung entspricht vollauf die Zusammensetzung der Fruchtfamilie $^{36}/2041$, während die beiden Familien $^{37}/14$ und $^{36}/2036$ ihr wenigstens insofern gerecht werden, als sie sich aus n⁻ und h⁻ zusammensetzen, wobei allerdings die n⁻-Pflanzen in zu kleiner Anzahl vorhanden sind.

Nur die Fruchtfamilie $^{36}/2041$ ist weiter analysiert worden. Gemäß den Genotypen der beiden Eltern und ihrer Gameten

Mutterpflanze $^{33}/453$b, 1 h⁻P = *gap/gAP*
Pollenpflanze $^{33}/453$a, 5 h⁻P = *gAp/gAP*

besteht sie zwar ausschließlich aus h⁻-Pflanzen, die aber nicht weniger als 4 verschiedenen Genotypen angehören sollten, davon einer phänisch h⁻p und 3 Genotypen phänisch h⁻P. Die Gametenkombinationen der Eltern ergeben

gap/gAp = h⁻p
gAP/gAp = h⁻P
gap/gAP = h⁻P
gAP/gAP = h⁻P.

Die verschiedenen Genotypen sollten sich in der Fertilität der Selbstungen und in der Zusammensetzung ihrer Nachkommenschaften auswirken. Von den h⁻p-Pflanzen der Familie ist eine geringe Selbstfertilität und spärliche Nachkommenschaft zu erwarten. Fraglich war von vornherein auch, ob die homozygoten *gAP/gAP* h⁻P-Pflanzen denselben Fertilitätsgrad erreichen würden wie die Heterozygoten *gap/gAP* und *gAP/gAp* oder ob ihre Homozygotie in bezug auf die Ausbildung großen Pollens — ähnlich wie bei homozygoten *GAP/GAP* Kurzgriffeln — sich hemmend auswirke.

Selbstbestäubungen sind 1937 an 30 gutentwickelten Stöcken von $^{36}/2041$ vorgenommen worden. Von allen sind Früchte und Samen — natürlich in sehr verschiedenen prozentualen Anteilen der bestäubten Blüten — geerntet worden. Es würde zu weit führen, die ausgearbeitete Tabelle mit den Angaben über Frucht- und Samenbildung, Zahl der Keimlinge und der blühenden Pflanzen an dieser Stelle wiederzugeben und im einzelnen zu analysieren. Immerhin sei erwähnt, daß aus 7 der 30 Samenproben mit 823 Samen aus 21 Früchten *keine* blühenden Nachkommen erhalten worden sind. Das entspricht ungefähr dem für h⁻p zu erwartenden Viertel der Gesamtheit der Probanden. 11 Aussaaten (1604 Samen aus 26 Früchten) ergaben eine Nachkommenschaft von 216 Pflanzen, wovon 50 n⁻ und 166 h⁻, also in ± dem Verhältnis 1:3, das für die Nachkommenschaften der Elterntypen *gap/gAp* und *gap/gAP* — allerdings mit Unterschieden in Phäno- und Genotypus der h⁻-Pflanzen — zu erwarten ist.

Aus 12 Aussaaten (2485 Samen aus 34 Früchten) wurden ausschließlich h⁻-Nachkommen erhalten, insgesamt 159 Pflanzen, die sich allerdings auf die einzelnen Familien in sehr wechselnder Individuenzahl — 1 bis 40 — verteilten. Es ist anzunehmen, daß zum mindesten die 9 Familien mit mehr als 4 Nachkommen auf die beiden Elterntypen *gAP/gAp* und *gAP/gAP* zurückgehen werden und sich also wieder in bezug auf die Pollenkorngröße verschieden verhalten.

c) Genetische Analyse von ^{33}/453a, 3 h⁻ P.

^{33}/453a, 3 h⁻ P stimmt in den Resultaten der Bestäubungen wie in der Zusammensetzung der Nachkommenschaften weitgehend mit ^{33}/453b, 1 h⁻ P überein. Wiederum sind die Resultate der Selbstungen und der Bestäubungen mit Pollen von ^{33}/453a, 5 h⁻ P am günstigsten, während die Resultate der Bestäubungen an h⁻- und n⁻-Pflanzen anderer Fruchtfamilien, wie die nachfolgende Liste zeigt, wenigstens zum Teil bedeutend geringer sind.

Tabelle 9.

Versuchsjahr	Bestäubungsmodus ♀	Bestäubungsmodus ♂	Bestäubte Blüten	Samenhaltige Früchte	Samen
1936	^{33}/453a, 3 h⁻ P	selbstbestäubt	11	11	460
1935	^{33}/453a, 3 h⁻ P	^{33}/453a, 5 h⁻ P	6	3	307
1936	^{35}/1668, 19 h⁻	^{33}/453a, 3 h⁻ P	2	2	113
1935	^{27}/1174, 9 n⁻	^{33}/453a, 3 h⁻ P	4	4	53
1935	^{28}/1291, 209 n⁻	^{33}/453a, 3 h⁻ P	2	1	22

Von den geernteten Früchten und Samen sind diejenigen der Selbstung und der Bestäubung 453a, 3 h⁻ × 453, 5 h⁻ zur Aussaat verwendet worden. Die Resultate stimmen mit denjenigen der entsprechenden Bestäubungen an ^{33}/453b, 1 h⁻ P durchaus überein.

Die Fruchtfamilie ^{36}/2039 ist aus den 307 Samen von 6 Früchten aus der Elternkombination 3 h⁻ × 5 h⁻ entstanden. Die Zahl der keimenden Samen war 212; 145 Pflanzen kamen zum Blühen, alle waren h⁻.

Aus den 460 Samen aus 11 Früchten der Selbstungen an ^{33}/453a, 3 h⁻ P ist die Fruchtfamilie ^{37}/15 aufgezogen worden. Die Zahl der keimenden Samen war 268, die Zahl der blühenden Nachkommen 89, davon 19 n⁻ und 70 h⁻. Das Verhältnis n⁻ : h⁻ entspricht der Erwartung ungleich besser als in der Nachkommenschaft von ^{33}/453b, 1 h⁻.

Zur Feststellung der verschiedenen Genotypen unter den h⁻-Pflanzen von ^{36}/2039 sind wieder 30 Pflanzen als Probanden für den Gesamtbestand isoliert und passende Blüten geselbstet worden. Die Resultate stimmen weitgehend mit denjenigen der Analyse von ^{36}/2041 überein.

Zehn der 30 Probanden von ^{36}/2039, von denen 859 Samen aus 19 Früchten zur Keimung ausgelegt wurden, haben Nachkommenschaften aus n⁻- und h⁻-Pflanzen im Verhältnis 24 n⁻ : 58 h⁻ produziert. Ihre Eltern werden also jedenfalls den beiden Genotypen *gap/gAp* und vor allem *gap/gAP* angehört haben.

Acht Familien aus 1334 Samen von 19 Früchten haben ausschließlich h⁻-Nachkommen. Ihre Gesamtzahl ist 67, mit 4 bis 13 wieder recht ungleich auf die Familien verteilt. Mit ziemlicher Sicherheit sind sie wohl den beiden Elterntypen *gAP/gAp* und *gAP/gAP* zuzusprechen. Un-

sicher ist dagegen die Zugehörigkeit von 5 weiteren Familien, die ebenfalls ausschließlich h⁻-Pflanzen, aber nur 1—3 pro Familie aufweisen.

Sieben Samenproben mit zusammen 844 Samen aus 16 Früchten haben zwar wenige Keimlinge, doch keine blühenden Nachkommen ergeben. Man wird kaum fehlgehen mit der Annahme, daß ihre Produzenten sämtlich oder doch mehrheitlich dem h⁻p-Typus angehört haben, der ja im Gesamtbestand von $^{36}/_{2039}$ zu $\pm {}^{1}/_{4}$ vertreten ist.

Abb. 8. F_2-Bastardnachkomme $^{36}/2039$, 8 h⁻ aus Selbstbestäubung an $^{33}/453$, 3 h⁻P (Aussaat der Samen Frühjahr 1936); Phot. $^{39}/37$.

d) Physiologische und genetische Analyse von $^{33}/453a$, 5 h⁻P.

Von ganz ungewöhnlicher Fruchtbarkeit hat sich $^{33}/453$a, 5 h⁻P, sowohl als Samen- wie als Pollenpflanze, erwiesen. Außer den in der nachfolgenden Übersicht aufgeführten Bestäubungen sind noch eine größere Zahl weiterer an n⁻- und h⁻-Pflanzen verschiedener Fruchtfamilien vorgenommen worden. Um deren Liste einigermaßen zu entlasten, sind schließlich nur diejenigen Frucht- und Samenernten in Tabelle 10 eingetragen worden, die hernach ausgesät worden sind. Auch so ist das Ergebnis frappant.

Aus 78 bestäubten Blüten sind 69 Früchte mit 5161 Samen geerntet worden. Pro Bestäubung ist die Samenzahl 66, pro Frucht sogar 75. Diese Zahlen sind durchaus derselben Größenordnung mit denjenigen *legitimer* Bestäubungen an n⁻-, h⁻- und n˘-Pflanzen von *Pr. hortensis*[1].

[1] In bezug auf die Frucht- und Samenbildung von *Pr. hortensis* sei z. B. auf einige Bestäubungen im Jahre 1934 verwiesen. An n⁻-, h⁻- und n˘-Pflanzen der *hort*-Fruchtfamilie $^{22}/585$ sind nach legitimen Bestäubungen die nachfolgenden Resultate erzielt worden:
7 Langgriffel: 20 Bestäubungen, 18 Früchte, 1560 Samen, 78 Samen pro Bestäubung, 87 Samen pro Frucht;
4 h⁻-Griffel: 14 Bestäubungen, 7 Früchte, 474 Samen, 34 Samen pro Bestäubung, 68 Samen pro Frucht;
9 Kurzgriffel: 34 Bestäubungen, 21 Früchte, 1164 Samen, 34 Samen pro Bestäubung, 55 Samen pro Frucht.

Dabei ist zwischen den Resultaten aus den Selbstungen, den Bestäubungen an Langgriffeln derselben und anderer *hort-* und *hortvisc*-Fruchtfamilien und denjenigen an h⁻-Griffeln kein faßbarer Unterschied vorhanden. Eigenartig schließen sich der Reihe der durchaus fertilen Bestäubungen die beiden Bestäubungen an *Kurz*griffeln der *hortensis*-Familie [23]/585 an. Diese Bestäubungen sind auch nach der weitesten Fassung der Legitimitätsregel *illegitim*, weisen aber hier einen ganz besonders hohen Grad der Fertilität auf. Die Diskussion dieses eigenartigen Verhaltens würde an dieser Stelle viel zu weit führen. Es ist übrigens für die hier zu beantwortenden Fragen der Fertilität von Bestäubungen zwischen den verschiedenen Typen von Lang- und h⁻-Griffeln bedeutungslos, dagegen natürlich nicht für die genetische Analyse von [33]/453a, 5 h⁻P.

Abb. 9a u. b. Blütenstände von h⁻-Pflanzen der F_2-Familie [36]/2039 (aus Selbstungen an [33]/453, 3 h⁻P). a Blütenstand von [36]/2039, 8 h⁻ (vgl. Abb. 8); Phot. [39]/39. b Blütenstand von [36]/2039, 34 h⁻; Phot. [39]/38.

Diese muß sich, da die beiden Fruchtfamilien aus Selbstungen fehlen, auf die Resultate der bereits unter 3, b und c, besprochenen Bestäubungen von [33]/453a, 3 h⁻ und [33]/453b, 1 h⁻P mit [33]/453a, 5 h⁻P, die Bestäubungen an Lang- und h⁻-Pflanzen von *hort-* und *hortvisc*-Familien und schließlich auf die Analyse der beiden Familien [37]/6 und 7 aus den Bestäubungen an Kurzgriffeln von *hort* [23]/585 beschränken.

Alle Bestäubungen an n⁻- und h⁻-Samenträgern haben ausnahmslos h⁻-Nachkommen, und zwar in einer jeden Zweifel ausschließenden Gesamtzahl von 1785 Pflanzen ergeben. Es kommt demnach [33]/453a, 5h⁻P die Formel *gAp/gAP* zu, und die möglichen Kombinationen mit *gap/gap*-Langgriffeln, *gAp/gap* h⁻p, sowie *gap/gAP*- und *gAP/gAp* h⁻P-Pflanzen ergeben ausschließlich h⁻-Pflanzen, allerdings — wie aus den Elternformeln abzuleiten ist — wieder mit verschiedenen Genotypen von h⁻p und h⁻P.

Tabelle 10.

Aussaat Nr.	Bestäubungsmodus ♀	Bestäubungsmodus ♂	Bestäubte Blüten	Samenhaltige Früchte	Samen	Blühende Pflanzen: Gesamtzahl	n˘	h˘	n⁻	h⁻
36/2038	33/453a, 5 h⁻P	selbstbestäubt	10	9	493					
37/16	33/453a, 5 h⁻P	selbstbestäubt	7	7	829					
36/2037	33/453a, 2 n⁻	33/453a, 5 h⁻P	1	1	90	54				54
36/2040	33/453a, 4 n⁻	33/453a, 5 h⁻P	1	1	68	33				33
36/2042	33/453a, 7 n⁻	33/453a, 5 h⁻P	2	2	160	45				45
37/3	23/585, 315 n⁻	33/453a, 5 h⁻P	6	6	485	292				292
37/4	23/585, 237 n⁻	33/453a, 5 h⁻P	4	3	209	138				138
36/2044	33/492, 61 n⁻	33/453a, 5 h⁻P	8	5	132	75				75
36/2046	33/492, 140 n⁻	33/453a, 5 h⁻P	6	4	80	25				25
36/2047	33/492, 149 n⁻	33/453a, 5 h⁻P	4	4	172	112				112
36/2034	26/1128, 7 h⁻	33/453a, 5 h⁻P	3	3	278	150				150
37/5	23/580, 80 h⁻	33/453a, 5 h⁻P	2	2	247	174				174
37/9	35/1665, 53 h⁻	33/453a, 5 h⁻P	3	3	196	98				98
37/10	35/1665, 21 h⁻	33/453a, 5 h⁻P	5	5	331	217				217
37/11	35/1665, 66 h⁻	33/453a, 5 h⁻P	3	2	216	103				103
37/12	35/1665, 7 h⁻	33/453a, 5 h⁻P	5	5	308	202				202
37/13	35/1665, 16 h⁻	33/453a, 5 h⁻P	3	2	138	67				67
37/6	23/585, 63 n˘	33/453a, 5 h⁻P	3	3	352	276	140			136
37/7	23/585, 121 n˘	33/453a, 5 h⁻P	2	2	377	256	132			124

Bei der weitgehenden Übereinstimmung aller Nachkommen aus den Bestäubungen an n⁻- und h⁻-Samenträgern bedeuten die beiden Familien aus der *illegitimen* Bestäubung an Kurzgriffeln von 23/585 eine wahre Wohltat. Sie sind mit 276 und 256 Pflanzen nicht nur ungewöhnlich groß, sondern spalten auch in nahezu idealem Verhältnis in die beiden elterlichen Phänotypen n˘ und h⁻ auf. Genotypisch allerdings sind diese beiden Phänotypen nicht einheitlich. Da unter den Kurzgriffeln von *hort* 23/585 die beiden Genotypen *gap/GAP* und *gAp/GAP* vorkommen, ist damit zu rechnen, daß die Zusammensetzung der auf die Bestäubungen an den beiden Samenträgern *hort* 23/585, 63˘ und 121˘ zurückgehenden beiden Familien 37/6 und 37/7 nur phänotypisch, aber nicht genotypisch gleichwertig ist. Für alle Fälle ist wahrscheinlich, daß die Kurzgriffel der beiden Familien 2 verschiedenen Genotypen angehören und von ihren h⁻-Pflanzen je ± die Hälfte h⁻P und h⁻p sein wird.

VI. Übersicht der im Formenkreis von *Pr. hortensis* und *viscosa* sowie in ihren Bastard-Nachkommenschaften analysierten Bestäubungskombinationen und ihre Bedeutung für das Kompatibilitätsproblem.

Unter Selbst-Inkompatibilität von Bestäubungen und dadurch verursachter Selbststerilität verstehen, wie schon einleitend ausgeführt worden ist, neuere Autoren (vgl. z.B. HUGHES und BABCOCK 1950b, S. 570) die *physiologische Unfähigkeit eines männliche und weibliche*

Gameten produzierenden Individuums zur Selbstbefruchtung. Sie beschränkt sich natürlich auf diejenigen Fälle, in welchen Pollen effektiv auf die Narbe derselben oder anderer Blüten desselben Individuums gelangt. Nicht inbegriffen sind alle diejenigen Möglichkeiten, welche die Übertragung von Pollen auf die Narbe im normalen Verlaufe der Anthese ausschließen. Ihr Sinn ist Vermeidung der *Selbstbefruchtung.* Sie ist in ihrem Wesen aber weitgehend verschieden von den Erscheinungen der *Proterandrie*, *Protogynie*, *Monoezie* und *Dioezie*, welche Selbstbefruchtung *primär* dadurch ausschließen, daß sie *Selbstbestäubung* unmöglich machen oder stark erschweren, indem sie ihr *zeitlich* oder *morphologisch* eine Barriere entgegenstellen. Inkompatibilität macht sich erst auf einem viel späteren Stadium im Ablauf der Anthese geltend, indem sie *zwischen Selbstbestäubung und Selbstbefruchtung* eine *physiologische* Barriere einschaltet.

Den als Inkompatibilität bezeichneten erfolglosen Beziehungen zwischen Pollen und Stempeln liegen verschiedene, bereits in der Einleitung erwähnte *genetische* Systeme zugrunde. Sie ist insbesondere bei Blütenpflanzen *ohne* Unterschiede im Blütenbau verbreitet, macht sich aber auch in den *Verwandtschaftskreisen mit Blütendi- und -trimorphismus* geltend. Nur auf die Vorgänge bei blütendimorphen und polymorphen Typen beziehen sich in der Hauptsache die voranstehende Beweisführung und die nachfolgenden Erörterungen.

1. Die morphologischen und genetischen Grundlagen für Kompatibilität und Inkompatibilität.

In der Geschichte des Heterostylieproblems hat das Studium der Fertilitätsverhältnisse entschieden den Primat. Darwins (1859 und 1862) Unterscheidung von *legitimen* Bestäubungen mit voller und *illegitimen* Bestäubungen mit verminderter oder gänzlich ausbleibender Fertilität ist bis in die neueste Zeit Axiom dieser Forschungsrichtung geblieben. Mit den Untersuchungen von Bateson und Gregory an *Pr. sinensis* (1905) hat im ersten Jahrzehnt dieses Jahrhunderts das Studium des *genetischen* Heterostylieproblems begonnen.

Die physiologischen und genetischen Studien zum Heterostylieproblem sind in Fragestellung und Methodik weitgehend verschieden und in ihren Fortschritten (vgl. v. Ubisch 1925, S. 296) auch verschieden stark voneinander abhängig. Genetische Analysen zur Kenntnis des Blütendi- und -trimorphismus haben Kenntnis und Berücksichtigung der durch die physiologische Forschung aufgestellten Fertilitätsregeln gewissermaßen als selbstverständliche Voraussetzungen. Im Gegensatz dazu hat die neuere physiologische Forschungsrichtung vielfach schon in ihrer Fragestellung und in der allgemeinen Auswertung ihrer Resultate die *genetischen* und vor allem auch die morphologischen

Gegebenheiten der Untersuchungsobjekte gar nicht oder nur teilweise zur Kenntnis genommen. So wird z.B. in nicht wenigen der neueren Diskussionen zum Inkompatibilitätsproblem der Heterostylen (vgl. z.B. LEWIS 1944) die obligate Ausbildung typischer Lang- und Kurzgriffel noch als allgemeingültige Regel angenommen und als ebenso sicher, daß "self- and crosspollination within these long- and shortstyled plants are incompatible, while pollinations between them are compatible". In einer späteren, allerdings wieder nicht sehr eingehenden Charakterisierung der morphologischen Gegebenheiten bei heterostylem Blütenbau hat LEWIS (1949, S. 474) zwar die *Abweichungen* von den als typisch betrachteten Merkmalskombinationen: langgrifflig — kurzgrifflig, hohe und tiefe Antherenstellung, zum Vergleich herangezogen, ohne indessen deren Bedeutung für das Heterostylieproblem und insbesondere für die Analyse der Beziehungen zwischen physiologischen Reaktionen und morphologischer Differenzierung auszuwerten. Vor allem ist auch unterlassen worden, die Fertilitätserscheinungen bei *verwandten monomorphen Arten* und die Aufschlüsse von Kreuzungen zwischen den abweichenden Phäno- und Genotypen untereinander und mit den normalen Lang- und Kurzgriffeln zu seinen Schlußfolgerungen heranzuziehen.

Auch in anderen neueren Arbeiten ist die Bedeutung jener Untersuchungen nicht erkannt worden. So hebt GERSTEL (1950, S. 497) wohl hervor, daß auch bei den Heterostylen die „self-incompatibility" sporophytisch kontrolliert werde, meint aber, unter Bezugnahme auf unsere Resultate von 1928: "It is characteristic of all these species with sporophytic control of incompatibility *that differences between reciprocal crosses do not occur*".

Unsere Bestäubungen zwischen *hort-* und *hortvisc* h^-p und *visc* h^-P sind nun weder Bestäubungen zwischen Individuen verschiedener Griffellänge, noch sind die Resultate der reziproken Kreuzungen gleichwertig. Vielmehr sind mit aller Deutlichkeit die nachfolgenden Verhältnisse herausgearbeitet worden:

1. h^-p-Pflanzen von *Pr. hortensis* sind selbst-inkompatibel und kreuzungs-inkompatibel für den Pollen normaler *hortensis*-Langgriffel. Die analysierten h^-P-Pflanzen von *Pr. viscosa* sind selbst-kompatibel und kreuzungs-inkompatibel für den Pollen von n^-.

2. Die reziproken Bestäubungen zwischen *hortensis* h^-p und *viscosa* h^-P sind Verbindungen zwischen Typen, die in Griffellänge und Antherenstellung übereinstimmen und sich morphologisch nur in der Größe der Pollenkörner voneinander unterscheiden. Die Bestäubung *hort* h^-p ♀ × *visc* h^-P ♂ ist fertil. Die reziproke Bestäubung *visc* h^-P ♀× *hort* h^-p ♂ ist kreuzungs-inkompatibel, Frucht- und Samenansatz sind selten oder bleiben ganz aus.

3. Die in den Nachkommenschaften aus den Kreuzungen *hort* $h^-p \times$ *visc* h^-P auftretenden n^--Pflanzen haben den kleinen Pollen der n^--Griffel beider Eltern und sind wie diese selbst-inkompatibel. Von den h^--Pflanzen sind $^2/_3$ groß- und $^1/_3$ kleinpollig. Die h^-p-Nachkommen sind, wie die n^--Pflanzen, selbst-inkompatibel. Die h^-P-Pflanzen gehören 2 verschiedenen Genotypen, *gap/gAP* und *gAp/gAP*, an. Die ersteren ergeben als Pollenpflanzen bei Bestäubungen an *Lang*griffeln zu gleichen Teilen normale n^-- und h^-P-Pflanzen. Bestäubungen mit dem Pollen von *gAp/gAP*-Pflanzen an normalen Langgriffeln dagegen geben ausschließlich h^--Nachkommen, von denen aber die Hälfte groß-, die andere kleinpollig ist.

4. Bei der Entstehung von *hortvisc*-Bastarden aus Kreuzungen *hort* $h^-p \times$ *visc* h^-P und in Bestäubungen mit den Phänotypen ihrer Nachkommenschaften sind Selbst- und Kreuzungsinkompatibilität nicht durch Verschiedenheiten in der Stempellänge, auch nicht von der gleich hohen Stellung der in Wechselwirkung tretenden Narbe und Antheren, *sondern einzig und allein von der Relation Pollenkorngröße–Stempellänge abhängig*.

Für die Abschätzung dieser Befunde für das Kompatibilitätsproblem ist der Hinweis wichtig, daß die in den Abschnitten III—V dieser Mitteilung analysierten Kreuzungen zwischen *hortensis* n^-- und h^--Pflanzen mit *viscosa* h^-P nur 2 von insgesamt 15 Paar Kreuzungen zwischen den Phänotypen der beiden Arten sind, die in gleicher Weise und in ähnlichem Umfang durchgeführt worden sind. Zu den Phänotypen der Eltern haben sich unter Verwendung der F_1-Bastarde und ihrer F_2—F_5 Nachkommenschaften noch weitere Genotypen und auch die beiden Phänotypen n^-P und $n^{\smile}p$ gesellt. Sie alle haben durchaus gleichsinnige Resultate zum Kompatibilitätsproblem beigesteuert. Mit den Resultaten der Einkreuzung des Typus h^-P von *Pr. viscosa* in den Formenkreis von *Pr. hortensis* sind die Aufschlüsse der ebenfalls erfolgreichen Einkreuzung der beiden Phänotypen *viscosa* $h^{\smile}P$ und $h^{\smile}p$ durchaus gleich wertvoll.

Von den 8 möglichen Kombinationen der je 2 Alternativen in den 3 Merkmalen der Stempellänge, Antherenstellung und Pollenkorngröße konnten die n^-P- und $n^{\smile}p$-Pflanzen erst in den letzten Versuchsjahren in die Versuche einbezogen werden. Ihre Resultate sind nicht in demselben Grade gesichert wie diejenigen der Bestäubungen an und mit den 6 primär eingeführten Phänotypen. In Abb. 10 sind daher nur die 15 Paare reziproker Kreuzungen zwischen den letzteren, die fertilen Kombinationen mit $\rightarrow$, die inkompatiblen mit $\nrightarrow$, eingetragen.

An und mit den 6 Phänotypen n^-p, h^-p, h^-P, $n^{\smile}P$, $h^{\smile}P$ und $h^{\smile}p$ sind also 36 verschiedene Bestäubungskombinationen, 6 Selbstungen

und 15 Paare reziproker Bestäubungen, vorgenommen worden. Die Klassifikation der Resultate hinsichtlich Kompatibilität der Bestäubung und Fertilität jeder Elternkombination ist durch *Auszählen der Früchte und Samen, die Feststellung der Keimfähigkeit der Samen und die morphologisch-genetische Analyse der aufgezogenen Nachkommenschaften in jeder Hinsicht gesichert.*

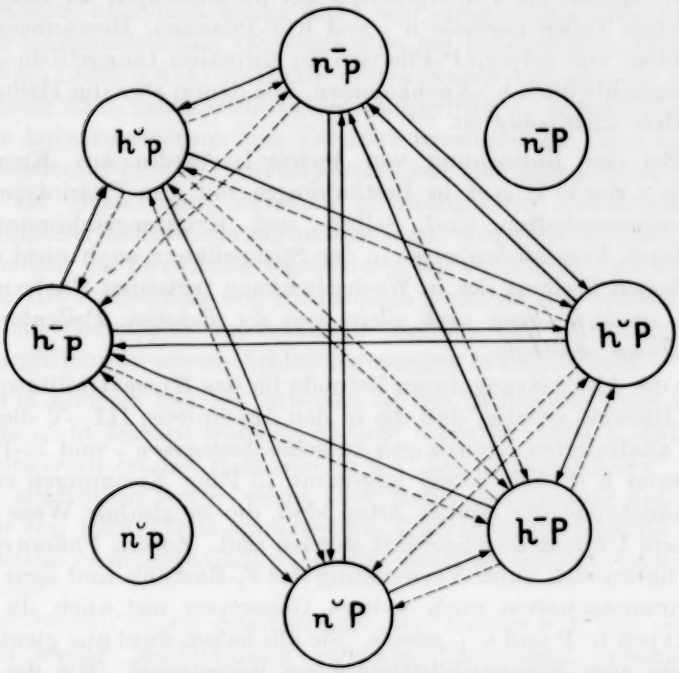


Abb. 10. Schema der kompatibeln und inkompatibeln Kombinationen zwischen 6 in Stempellänge, Antherenstellung oder Pollenkorngröße verschiedenen Phänotypen von *Pr. hortensis*, *Pr. viscosa*, ihrer Bastarde und der Bastard-Nachkommenschaften.

In bezug auf die *Selbstungen* sind h⁻P und h˘p selbst-kompatibel die beiden normalen Typen n⁻p und n˘P sowie die beiden weiteren Phänotypen h⁻p und h˘P ± selbst-inkompatibel.

Die Resultate der 15 Paare *reziproker* Bestäubungen sind in bezug auf *Vererbung* und das *Fertilitätsproblem* verschieden zu werten. In letzterer Hinsicht sind von den 15 Paaren 4 Paare in den beiden reziproken Bestäubungen fertil. In 9 Paaren ist eine Elternkombination fertil, die andere steril, und in 3 Elternkombinationen erweisen sich beide Bestäubungen als inkompatibel.

In bezug auf die *Ausbildung der in Frage stehenden Einzelmerkmale des Heterostylie-Komplexes* liegen die Verhältnisse wie folgt:

	Griffellänge	Antherenstellung	Pollengröße
a) Fertilität in den beiden reziproken Bestäubungen:			
$n^{-}p \times n^{\smile}P$	verschieden	verschieden	verschieden
$h^{-}p \times h^{\smile}P$	verschieden	verschieden	verschieden
$h^{-}p \times n^{\smile}P$	verschieden	gleich	verschieden
$n^{-}p \times h^{\smile}P$	verschieden	gleich	verschieden
b) Fertilität der einen der reziproken Bestäubungen:			
$h^{-}P \times h^{\smile}P$	verschieden	verschieden	gleich
$h^{\smile}p \times h^{-}p$	verschieden	verschieden	gleich
$h^{-}P \times n^{\smile}P$	verschieden	gleich	gleich
$h^{\smile}p \times n^{-}p$	verschieden	gleich	gleich
$n^{-}p \times h^{-}P$	gleich	verschieden	verschieden
$n^{\smile}P \times h^{\smile}p$	gleich	verschieden	verschieden
$h^{-}p \times h^{-}P$	gleich	gleich	verschieden
$h^{\smile}P \times h^{\smile}p$	gleich	gleich	verschieden
c) Sterilität beider Bestäubungskombinationen:			
$h^{-}P \times h^{\smile}p$	verschieden	verschieden	verschieden
$n^{\smile}P \times h^{-}P$	gleich	verschieden	gleich
$h^{-}p \times n^{-}p$	gleich	verschieden	gleich

In bezug auf das Fertilitätsproblem lassen sich aus den Resultaten der 36 Elternkombinationen die folgenden Sätze ableiten:

1. Zugehörigkeit der beiden Partner zu Phänotypen *verschiedener Stempellänge* ist *nicht* Voraussetzung für fertile Bestäubungen. Nur in 12 der 15 fertilen Elternpaarungen sind die Stempel von verschiedener Länge; 3 Kombinationen von Phänotypen gleicher Stempellänge sind ebenfalls fertil.

2. Verschiedene Antherenstellung der beiden Partner ist ebenfalls keine unabänderliche Vorbedingung für Fertilität. Nur in 8 der 16 fertilen Kombinationen finden sich die Antheren in verschiedener, in den 8 anderen dagegen in derselben Höhenlage.

3. Auch Unterschiede in der Pollenkorngröße zweier Partner sind nicht unabänderliche Bedingung für *fertile* Bestäubungen. Solche Unterschiede sind nur in 12 der 16 unter a) und b) aufgeführten Bestäubungen zwischen 2 verschiedenen Phänotypen vorhanden, fehlen aber in den 4 fertilen Bestäubungen $h^{-}P\,♀ \times h^{\smile}P\,♂$, $h^{\smile}p\,♀ \times h^{-}p\,♂$, $h^{-}P\,♀ \times n^{\smile}P\,♂$ und $h^{\smile}p\,♀ \times n^{-}p\,♂$. Andererseits sind von den unter c) aufgeführten 3 Paaren *steril* bleibender Elternkombinationen die reziproken Bestäubungen zwischen $h^{-}P$ und $h^{\smile}p$ in bezug auf die Pollenqualität ungleich.

4. Fertil sind nicht die Bestäubungen zwischen verschiedengriffligen Individuen, auch nicht alle Bestäubungen zwischen Organen in gleicher Höhenlage, *fertil sind die Bestäubungen von Lang- und Kurzgriffeln* (ohne Rücksicht auf deren Antherenstellung) *mit Pollen einer bestimmten Qualität*; *Langgriffel werden durch großen, Kurzgriffel durch kleinen*

Pollen fertil bestäubt. Pollenkörner von n$^{\smile}$, h$^{\smile}$P und h^{-}P haben in gleichem Grade die Fähigkeit zur Keimung auf den Narben von Langgriffeln; n^{-}-, h^{-}p- und h$^{\smile}$p-Pollen dagegen hat die Fähigkeit zur Keimung auf den Narben der kurzgriffligen Alternativen der Stempelausbildung.

5. Die Keimung des Pollens auf Narben desselben Individuums und fremder Partner sowie die Entwicklung der Pollenschläuche werden nicht durch den Genotypus des Pollenkorns, sondern durch *Geno- und Phänotypus des Pollenbildners* bestimmt.

6. Kreuzungsinkompatibel erweisen sich alle Elternkombinationen, welche großen Pollen auf Kurzgriffel und kleinen Pollen auf Langgriffel übertragen. Inkompatibilität resultiert auch in Kombinationen deren Partner, wie z. B. h^{-}P und h$^{\smile}$p sich in allen 3 Heterostyliemerkmalen unterscheiden oder bei Übereinstimmung in der Stempellänge, aber verschiedener Antherenstellung, großer Pollen auf die Narbe von n$^{\smile}$- und h$^{\smile}$-Pflanzen oder kleiner Pollen auf die Narbe von n^{-}- und h^{-}-Pflanzen übertragen wird.

Von unseren Ergebnissen über den *Erbgang der Heterostyliemerkmale* sind für das Kompatibilitätsproblem folgende Feststellungen bedeutungsvoll.

1. Bei den dimorphen *Primula*-Arten ist Heterostylie nicht absolut, aber doch in der Regel mit Heterantherie gekoppelt, doch ist die Beschaffenheit des Pollens nicht durch die Stellung der Antheren an sich bedingt. Wohl entstehen bei den beiden *Normal*typen in den hochstehenden Antheren der Kurzgriffel großer und in den tiefstehenden Antheren der Langgriffel kleiner Pollen. Die beiden Allele der Pollenausbildung können indessen auch frei mit den Unterschieden in der Antherenstellung kombiniert auftreten, großer und kleiner Pollen sowohl in hoch- wie in tiefstehenden Antheren zur Ausbildung gelangen.

2. Mit den morphologischen Unterschieden in der Ausbildung von Stempel, Staubblättern und Pollen sind auch die *physiologischen* Unterschiede gekoppelt, welche in den Erscheinungen von Kompatibilität und Inkompatibilität zum Ausdruck gelangen und als *Auswirkungen des Somas der gametenbildenden Elternpflanzen* — unabhängig von der Genkombination der Gameten — sich in die entwicklungsphysiologischen Prozesse zwischen Übertragung des Pollens und die Befruchtung einschalten.

Das Untersuchungsmaterial, aus dessen Analyse die vorstehenden Leitsätze abgeleitet worden sind, umfaßt mehrere tausend Bestäubungen, Keimversuche mit etwa 1500 Samenproben und Aufzucht und mehrjährige Kontrolle von insgesamt 720 Fruchtfamilien mit 24100 blühenden Pflanzen. Die eingehende Besprechung der *nicht* unter III—V dieser Mitteilung analysierten Elternkombinationen sowie die Auswertung der

weniger gesicherten Resultate der in Abb. 10 *nicht* eingetragenen Bestäubungskombinationen an und mit n⁻P und n˘p-Pflanzen ist bereits weitgehend vorbereitet; ihr Druck im „Archiv" der J. Klaus-Stiftung, deren Subventionen die Durchführung unserer genetischen Untersuchungen an Primeln möglich gemacht haben, ist für das Jahr 1954 vorgesehen.

2. Die chemischen und entwicklungsphysiologischen Grundlagen für Kompatibilität und Inkompatibilität.

Durch unsere Untersuchungen ist für den Verwandtschaftskreis um *Pr. hortensis* wohl einwandfrei klargestellt worden, welche Elternkombinationen fertil sind und welche Sterilität auslösen. Sie haben auch die zahlreichen Möglichkeiten im Erbgang der morphologischen Heterostyliemerkmale verständlich gemacht. Eine große Lücke im Lösungsversuch des Gesamtproblems ist dagegen geblieben: Feststellungen über die chemischen Gegebenheiten und die entwicklungsphysiologischen Vorgänge, die sich zwischen den Vorgängen der Bestäubung und Befruchtung einschalten und Kompatibilität der einen und Inkompatibilität von anderen Bestäubungen zur Folge haben.

In unserer ersten Mitteilung zum Heterostylieproblem (1925, S. 48) ist nach der Besprechung der Bestäubungen erblich-homostyler Typen mit normalen Lang- und Kurzgriffeln vermutet worden, daß die Fertilität der einen und die Sterilität anderer Bestäubungen nicht darauf beruhen könne, daß spezifische, den Fertilitätsgrad bestimmende stoffliche Unterschiede zwischen Lang- und Kurzgriffeln mit den Genen für Lang- und Kurzgriffligkeit übertragen würden. Der verschiedene Ausfall reziproker Kreuzungen von h⁻- und h˘-Typen mit normalen Lang- und Kurzgriffeln spreche, wie ausgeführt wurde, auch gegen die Annahme, daß der geringe Frucht- und Samenansatz der Normaltypen n⁻ und n˘ bei Selbstbestäubungen auf der Einwirkung von *Individualstoffen* beruhe, die Selbstbestäubungen erfolglos machten und illegitime Fremdbestäubungen im Erfolg beeinträchtigten. Wahrscheinlicher schien uns damals, in Übereinstimmung mit v. Ubisch (1923, S. 201), daß Konzentrationsunterschiede irgendwelcher Substanzen in den Reproduktionsorganen von Bedeutung sein könnten und z. B. Konzentrationsunterschiede oder ein bestimmtes Gefälle in verschiedenen Höhenlagen der Blüte in irgendeiner noch nicht genau zu bestimmenden Weise über Erfolg oder Mißerfolg der Bestäubungen entscheide. Die Untersuchungen von Zollikofer (1932, S. 765) haben sodann an unserem Untersuchungsmaterial zum Nachweis geführt, daß legitime und illegitime Bestäubungen annähernd denselben Fruchtansatz ergeben, wenn Narbe und Griffel abgeschnitten und der bestäubende Pollen dem Griffelstumpf aufgetragen wird. Ihre weiteren Versuche mit Austausch von Griffel und

Narbe an Lang- und Kurzgriffeln haben nachgewiesen, daß insbesondere im Griffel „Hemmungsstoffe" wirksam sind, die das Wachstum der Pollenschläuche verlangsamen oder gänzlich zum Stillstand bringen.

Für andere Heterostyle, blütendimorphe Vertreter der Gattungen *Linum* und *Fagopyrum* und das blütentrimorphe *Lythrum salicaria*, sah sich SCHOCH-BODMER (1945, S. 412) zu der auch den modernsten Untersuchungsresultaten durchaus konformen Hypothese veranlaßt, daß dem Hemmungsstoff in Narbe und Griffel ein „Hemmungs-Antwortstoff" im Pollen entspreche.

Hinsichtlich der *chemischen Natur der Hemmungsstoffe* bei Selbststerilität hat schon EAST in seinem Übersichtsreferat (1929, S. 359) betont, daß "the reaction between the stylar tissue and the pollen tubes is an individually mutual reaction — analogous only to the reactions found in immunology".

Durch die Versuche von STRAUB (1946—1948) an *Petunia* ist die Gültigkeit der Immunitätstheorie für Selbststerilität sehr fraglich gemacht worden. Aus seinen eigenen Versuchen an *Petunia* und denjenigen von SCHOCH-BODMER und HUBER (1946) an *Lythrum* hat er den Schluß abgeleitet, daß *Pollenstoffe enzymatischer Natur* im Leitgewebe von Narbe und Griffel vorkämen, welche nach legitimen Bestäubungen den Pollenschläuchen ermöglichten, mit gleichbleibender Geschwindigkeit die Griffelgewebe zu durchwachsen und die Eizellen der Samenanlagen zu erreichen. Selbstungen sollen den Verbrauch des Pollenschlauchstoffes erhöhen, indem ein Teil desselben durch Leitgewebestoffe inaktiviert werde; nicht die Bildung eines Hemmungsstoffes, sondern die *Inaktivierung eines Wuchsstoffes* wurde damit als Ursache der Inkompatibilität proklamiert.

Die weitgehendste Klärung der chemischen Seite des Kompatibilitätsproblems für Heterostyle ist durch die Kombination experimenteller und chemischer Untersuchungen von MOEWUS (1950) und KUHN und LÖW (1949) an der ausgeprägt blütendimorphen *Forsythia intermedia* ZABEL eingeleitet worden. Von den Untersuchungsergebnissen bedeuten die nachfolgenden eine wesentliche Förderung verschiedener Seiten des Heterostylieproblems:

Bestäubungen mit Pollen aus *offenen* Blüten geben die der klassischen Legitimitätsregel entsprechenden Resultate der legitimen und illegitimen Bestäubungen an und mit Lang- und Kurzgriffeln. Bei *Bestäubungen mit Pollen aus noch geschlossenen Blüten* (etwa 2 Tage vor der Anthese) sind sowohl die als legitim wie die als illegitim zu bezeichnenden Kombinationen *fertil*, d.h. sie geben, wie mehrfach erwähnt wird, „Samenansatz". In Gegenwart von *Borsäure* sind auch die Selbstungen voll offener Blüten in gleichem Sinne fertil.

In *chemischer* Hinsicht liegen die Verhältnisse bei *Forsythia* wie folgt: Der Pollen der *Kurz*griffel enthält das *Quercetin*derivat *Rutin*, derjenige der *Lang*griffel *Quercitrin*. Die Kreuzungsfertilität kommt dadurch zustande, daß Kurzgriffelblüten in den Narben nur ein *Quercitrin*-spaltendes Ferment, Langgriffelblüten nur ein *Rutin*-spaltendes Ferment haben. *Rutin*-haltiger Pollen keimt also auf den Narben von Langgriffeln, *Quercitrin*pollen auf den Narben von Kurzgriffeln.

Gerade infolge des unbestreitbar großen Wertes dieser biochemischen Aufschlüsse für das Verständnis der Fertilitäts- und Sterilitätsfolgen der verschiedenen Bestäubungen drängen sich eine ganze Menge weiterer Fragen auf. Nur einige seien erörtert:

In den Antheren ungeöffneter Blüten (2—3 Tage vor der Anthese) sind die Pollenkörner bereits keimungsfähig. Sie sind sicher auch morphologisch bereits fertiger, großer *oder* kleiner Pollen. Wenn also nach Annahme von MOEWUS in den Pollenkörnern der noch geschlossenen Blüten von Lang- und Kurzgriffeln noch gleichartig *Quercetin* enthalten ist und *Rutin* und *Quercitrin* erst unmittelbar vor der Anthese gebildet werden, so ist dieser chemisch-physiologische Unterschied im *reifen* Pollen der Lang- und Kurzgriffel offenbar weitgehend *unabhängig von den Genen* für die morphologische Ausbildung von Antheren und Pollen. Die Entscheidung: Ausbildung von großem oder kleinem Pollen ist durch Phäno- und Genotypus einer jeden Elternpflanze, also *somatisch* bedingt. Bei den Primeln sind (vgl. z. B. DAHLGREN 1916, S. 10 und Tafel 1, Fig. 10—22) schon die *Pollenmutterzellen* der Langgriffel wesentlich kleiner als diejenigen der Kurzgriffel.

Die abweichenden Resultate von Bestäubungen mit Pollen noch nicht geöffneter Blüten und von Pollen offener Blüten nach *Bor*behandlung bedeuten zunächst nur Störungen im normalen Ineinandergreifen von Stoffwechselvorgängen zwischen Pollen und den Narben- bzw. Griffelgeweben. Ihr Einfluß auf die genetischen Belange, d. h. die Nachkommenschaft aus den verschiedenen Elternkombinationen, ist noch völlig unbekannt.

In seinen Tabellen 1—4 (l. c. 1950, S. 183—185) setzt MOEWUS neben die Kolonne „Zahl der bestäubten Blüten" eine zweite mit der Überschrift „davon Samenansatz". Irgendwelche weitere Angaben, ob wirklich Ausbildung vollkommener Samen und nicht bloß die bei anderen Blütendimorphen nicht allzu seltene ± weitgehende Parthenokarpie nach „illegitimen" Bestäubungen mit oder ohne Ausbildung tauber Samen erfolgt ist, fehlen.

Forsythia intermedia ZABEL ist ein *Art*bastard, hervorgegangen aus Kreuzungen zwischen *Forsythia suspensa* VAHL und *Forsythia viridissima* LINDL. HILDEBRAND (1894) hat Bastarde aus beiden Elternkombinationen, *suspensa* kurzgr. ♀ × *viridissima* langgr. ♂ und *viridissima* langgr. ♀ × *suspensa* kurzgr. ♂, erhalten, aber in bezug auf die Samenbildung der zweitgenannten Elternkombination festgestellt: „Die in Früchten enthaltenen Samen sind mehr schwammig, und es sind unter ihnen nur wenige keimfähig." *Pseudofertilität* mit parthenokarper Fruchtbildung — mit oder ohne *taube* Samen — resultiert in zahlreichen anderen Gattungen nicht nur im Artkreuzungsvorgang, sondern sehr häufig in noch vermehrtem Maße nach Bestäubungen an den erhaltenen, vegetativ luxurierenden Artbastarden.

Des weiteren sei darauf verwiesen, daß EAST (1929 und 1934) für *Nicotiana Sanderae* den einwandfreien Nachweis erbracht hat, daß „end-of-saison conditions"

den Einfluß modifizierender Gene für die Inkompatibilitätsreaktionen wesentlich abschwächen können. Verschiedene Genotypen können verschiedene Grade der Pseudofertilität aufweisen, und diese kann durch Bestäubungen mit Pollen *ungeöffneter* Blüten noch wesentlich gesteigert werden.

Zur Beurteilung des Inkompatibilitätsgrades illegitimer Bestäubungen an *offenen* Blüten von *Forsythia intermedia* mit Pollen anderer offener Blüten sowie dessen Fluktuationen nach Bestäubungen mit Pollen aus Blütenknospen und ebenso nach Einwirkung von *Bor* sind *genaue Angaben über Zahl der Früchte und der in ihnen enthaltenen ± normal aussehenden — oder noch besser — keimungsfähigen Samen Voraussetzung.*

Sollten, was selbstverständlich durchaus im Bereich des Möglichen liegt, aus den künstlich fertilisierten illegitimen Bestäubungen keimfähige Samen hervorgehen, so würden *Keimversuche* mit solchen Samenproben höchst erwünschte Aufschlüsse zur *genetischen* Seite des Heterostylieproblems ergeben. Zu erwarten ist, daß durch die „Fertilisierung der illegitimen Bestäubungen" die Nachkommenschaft genetisch nicht verändert wird. Wichtig aber wäre festzustellen, ob bei *Forsythia* die bei den Primeln einwandfrei festgestellten Unterschiede in der Keimkraft der Samen aus legitimen und illegitimen Bestäubungen, sowie die Unterschiede in der Aufzucht und in der Blühwilligkeit der Nachkommen ebenfalls nachzuweisen sind.

Die Ergänzung der bisherigen Untersuchungen von MOEWUS in den angedeuteten und vielleicht noch anderen Richtungen, vor allem aber in morphologisch-genetischer Hinsicht, wäre für die Lösung des allgemeinen Heterostylieproblems sehr wertvoll und dürfte, sofern MOEWUS seine Untersuchungen nicht selbst fortsetzt, einen jungen Genetiker vor eine sicher reizvolle und dankbare Aufgabe stellen.

Die Untersuchungen von MOEWUS an *Forsythia* haben die chemisch-physiologischen Ursachen und Bedingungen für das Zustandekommen von Kompatibilität und Inkompatibilität bei einem ± als klassisch zu bezeichnenden Typus des Blütendimorphismus mit Heterostylie, Heteranthere und Unterschieden in der Pollenqualität aufgezeigt. Dieser Typus des Dimorphismus ist in den neueren Arbeiten von LEWIS (1949), GERSTEL (1950), BABCOCK und HUGHES (1950a und b) und anderen in eingehenden Besprechungen der Resultate ihrer eigenen Untersuchungen zum Kompatibilitätsproblem herangezogen worden. Es ist nicht daran zu zweifeln, daß die Befunde an *Forsythia* für Untersuchungen in allen weiteren Gruppen von Heterostylen — auch an den Primeln — und vielleicht auch für *monomorphe Typen mit Selbstfertilität* wegweisend sein werden. Relativ einfache chemische Veränderungen, die sich zum Teil erst während der letzten Phasen der Organdifferenzierung abspielen, können — bei völliger Unabhängigkeit von der den Phänotypus der Blütenplastik bestimmenden Genkombination — die Beziehungen zwischen Pollenkorn bzw. Pollenschlauch einerseits, Griffel- und Narbengewebe andererseits regulieren und darüber hinaus in einer zur Zeit allerdings noch gar nicht übersehbaren *Fern*wirkung auch die Frucht- und Samenbildung, die Keimfähigkeit der Samen und den Wachstumsrhythmus der Nachkommenschaft bestimmend beeinflussen.

VII. Zusammenfassung und Thesen.

Das auf DARWIN zurückgehende Schema der *legitimen* und *illegitimen* Bestäubungen an Primeln ist für viele Autoren bis in die neueste Zeit, auch in hochwissenschaftlichen Werken (vgl. z. B. DARLINGTON und MATHER 1949), Grundlage jeder physiologischen und genetischen Behandlung des Heterostylieproblems geblieben und immer und immer wieder wird der Blütendimorphismus als Beispiel zweckmäßiger Anpassungserscheinungen im Bereich der Blütenplastik zitiert. Unberücksichtigt bleiben dabei die seit 1936 in mehreren unserer Arbeiten gesicherten Befunde bei monomorphen *Primula*-Arten und der Analyse anderer Arten mit homostylen Typen. Sie haben nachgewiesen, daß „die gleich hohe Stellung aufeinander abgestimmter Organe *verschiedener* Blütentypen" und ihre „Zweckmäßigkeit" bei Insektenbestäubung nicht *Ursache*, sondern nur eine von mehreren Auswirkungen der Entstehung des Blütendimorphismus aus freier Kombination von Kleinmutationen im Blütenbereiche monomorph homostyl-blütiger Stammformen sein kann.

Auch in dieser Mitteilung ist wiederum aufgezeigt worden, daß es weder für das Verständnis des „klassischen" Blütendimorphismus noch seiner Teilerscheinungen genügt, sich auf die Auswertung der morphologischen und physiologischen Gegebenheiten der „Normaltypen" zu beschränken. Diese sind ihrerseits nur verständlich bei Berücksichtigung der abweichenden Verhältnisse blüten*monomorpher*, verwandter Arten und den als *sekundäre Abweichungen entstandenen homostylen Typen dimorpher Arten*. Nur auf dieser Basis ist eine Vertiefung unserer Einsichten in die Verschiedenheiten der morphologischen Differenzierung und der physiologischen Reaktionen bei Selbst- und Fremdbestäubungen und schließlich auch das Verständnis für die *Vererbung* der morphologischen und physiologischen Einzelmerkmale zu erreichen.

1. Die Alternativen in den morphologischen Grundlagen des Blütendimorphismus bei Primeln.

a) Die gleich hohe Stellung aufeinander abgestimmter Organe ist nicht nur in den legitimen Bestäubungen zwischen normalen Lang- und Kurzgriffeln realisiert, sondern auch in den *Selbstungen der monomorphen Arten* und der homostylen $h^{-}P$- und $h^{\smile}p$-Typen sowie in den Kombinationen $h^{-}p \times h^{\smile}P$, $h^{-}p \times n^{\smile}P$ und $n^{-}p \times h^{\smile}P$.

b) Bei blütendimorphen Primeln ist *Heterostylie* mit *Heterantherie* gekoppelt, doch ist die Beschaffenheit des Pollens nicht von der Stellung der Antheren abhängig. Bei den „normalen" Kurzgriffeln wird in hochstehenden Antheren großer, in den tiefstehenden Antheren der „normalen" Langgriffel kleiner Pollen ausgebildet. Die beiden Pollentypen können darüber hinaus frei mit den Unterschieden in der Antheren-

stellung kombiniert auftreten: *kleiner und großer Pollen kann in hoch- wie in tiefstehenden Antheren zur Ausbildung gelangen.*

c) Die aus Pollenmessungen an dimorphen Vertretern verschiedener anderer Gattungen abgeleitete Regel, „daß jeweils *die* Organe (Pollenkörner, Narbenpapillen) am größten sind, die in den Blüten am höchsten orientiert werden", hat für die dimorphen Primeln keine Gültigkeit. Nicht nur die Pollenkörner, sondern auch die Narbenpapillen sind in ihren Größenverhältnissen völlig unabhängig von der Stellung der sie produzierenden Organe innerhalb der Blüten.

d) Nicht nur für die Primeln, sondern für alle anderen blütendimorphen Arten gilt der Satz, daß zu jedem Griffeltypus ein bestimmter Pollentypus (bzw. Schlauchtypus) paßt, wobei weder die Antherengröße noch die Filamentlänge (bzw. Antherenstellung) ausschlaggebend sind. Volle Fertilität wird nur erreicht, wenn ein bestimmter Pollentypus auf den zugehörigen Griffeltypus gelangt, bei dimorphen Primeln also großer Pollen auf die Narbe von Langgriffeln, kleiner Pollen auf die Narbe von Kurzgriffeln.

2. Die Alternativen im Erbgang der Heterostylie-Merkmale.

a) Die Merkmalskombinationen „normaler" Langgriffel (langer Griffel, tiefe Antherenstellung, kleiner Pollen) einerseits, der „normalen" Kurzgriffel (kurzer Griffel, hohe Antherenstellung, großer Pollen) andererseits sind keine untrennbaren Einheiten. Die Alternative großer oder kleiner Pollen ist durchaus unabhängig sowohl von der Stempellänge wie von der Antherenstellung. Die Fähigkeit zu ihrer Ausprägung kann frei mit den beiden Alternativen für Lang- und Kurzgriffligkeit, hohe und tiefe Antherenstellung, kombiniert auftreten.

b) Für die Alternativen aller 3 Merkmale ist absolute Dominanz, G > g, A > a, P > p, Regel. Die *Heterozygoten* GgAaPp übertragen jedes einzelne in Frage kommende Merkmal durchaus in derselben Prägnanz wie die für die meisten Arten in der freien Natur nicht oder doch nur selten auftretenden, im Experiment dagegen nicht allzu schwer zu erhaltenden *Homozygoten*.

c) Nicht nur die „normalen" Kurzgriffel, sondern auch die h^-p-Pflanzen von *Pr. hortensis* und die am natürlichen Standort gefundenen abweichenden Phänotypen h^-P, $h^{\smile}P$, $h^{\smile}p$ von *Pr. viscosa*, auch die sehr selten gefundenen n^-P- und $n^{\smile}p$-Pflanzen, sind Heterozygoten. Ihre besondere Genkombination ist immer mit der *gap*-Genkombination normaler Langgriffel verbunden.

d) Die Einzelmerkmale des gesamten Heterostyliekomplexes sind unter dem Einfluß wechselnder Kombinationen der Umweltsfaktoren — im besonderen infra- und superoptimaler Temperaturen — stark

modifizierbar. Trotzdem findet eine Überschneidung der Modifikationsbreiten der alternativen Stempellängen und Pollenkorngrößen nicht statt. Dagegen werden die Unterschiede in den alternativen Antherenstellungen (damit auch die Narben/Antherenabstände) infolge ihrer Abhängigkeit von der stark temperaturbedingten Streckung der Kronröhre unter ungünstigen Außenbedingungen oft weitgehend verwischt.

3. Die Alternativen von Selbst- und Kreuzungskompatibilität und Inkompatibilität.

a) In physiologischer Hinsicht geben nicht die Resultate der Bestäubungen an und mit normalen Lang- und Kurzgriffeln, sondern die Bestäubungen an monomorphen Arten, sowie an und mit den homostylen Typen dimorpher Arten die eindeutigsten Aufschlüsse. In bezug auf *Selbstfertilität* (Selfcompatibility) und *Kreuzungsfertilität* (Cross-compatibility) stehen die normalen Lang- und Kurzgriffel dimorpher Arten den monomorphen Arten und gewissen homostylen Typen nicht nur in bezug auf Frucht- und Samenbildung, sondern auch in der Keimfähigkeit der Samen und der Aufzucht der Nachkommenschaft zu blühenden Pflanzen bedeutend nach. Der Blütendimorphismus ist in mehrfacher Hinsicht *nicht günstiger* — eher kaum so günstig — wie der Blütenmonomorphismus. Er bedeutet nur eine der vielen Möglichkeiten, Samenbildung nach Selbstbestäubungen ganz oder teilweise durch die für die Sicherung der Artkonstanz günstigere Samenbildung aus *Fremd*bestäubungen zu ersetzen.

b) Kreuzungsfertilität resultiert nicht nur aus Bestäubungen zwischen normalen Lang- und Kurzgriffeln. Maßgebend ist nicht die Kombination zwischen 2 verschiedenen Griffeltypen, auch nicht die Bestäubung zwischen Organen derselben Höhenlage; kreuzungskompatibel sind bei Primeln die Bestäubungen langgriffliger Stempel mit großem und kurzgriffliger Stempel mit kleinem Pollen. Die Phänotypen $n^{\smile}P$, $h^{-}P$, $h^{\smile}P$ produzieren großen Pollen, der die Fähigkeit besitzt, auf den Narben von Langgriffeln zu keimen und deren Pollenschläuche ohne Hemmung oder Wachstumssistierung den Weg zu den zu befruchtenden Samenlagen finden. Entsprechendes gilt für die Phänotypen $n^{-}p$, $h^{-}p$, $h^{\smile}p$. Ihr Pollen keimt auf den Narben von Kurzgriffeln und bildet Pollenschläuche, welche normale Befruchtung auszulösen befähigt sind.

c) Kreuzungsinkompatibilität kennzeichnet alle Bestäubungskombinationen mit Übertragung von kleinem Pollen auf die Narbe langgriffliger und von großem Pollen auf die Narbe kurzgriffliger Blüten. Immerhin ist sowohl der Grad der Selbststerilität normaler Lang- und Kurzgriffel wie auch die Kreuzungsinkompatibilität nach illegitimen Bestäubungen bei vielen *Primula*-Arten nicht absolut, sondern innerhalb relativ weiter Grenzen artspezifisch verschieden.

d) Das für die dimorphen Arten geltende Inkompatibilitätssystem ist nicht durch die genetische Konstitution der haploidkernigen Pollenkörner, sondern ausschließlich durch Übereinstimmungen und Unterschiede im Zytoplasma (bzw. seiner Einschlüsse) von Pollen und der diploiden Gewebe seines Erzeugers und des Bestäubungspartners bestimmt. Nur diese Annahme macht unter anderem verständlich, daß nicht nur die heterozygoten Kurzgriffel, sondern auch die heterozygoten langgriffligen h⁻P- und kurzgriffligen h˘P-Pflanzen Pollenkörner verschiedener *genetischer* Konstitution erzeugen, die trotz dieser Verschiedenheit in gleicher Weise auf den Narben von Langgriffeln volle Fertilität auslösen.

e) Zur Entstehung des Blütendimorphismus aus primärem Monomorphismus mit voller Selbstfertilität haben zweierlei *mutative Abänderungen im Genbestande* Anlaß gegeben. Die einen haben sich hauptsächlich *formativ*, in der Determination der Blütenplastik, die anderen dagegen *regulierend* — fördernd oder hemmend — vor allem im Ablauf der zwischen Bestäubung und Befruchtung sich einschaltenden Entwicklungs- und Wachstumsvorgänge ausgewirkt. In dem in Aussicht genommenen Schlußbericht über meine Untersuchungen zum Heterostylieproblem werden dereinst auch die Fragen nach der Lokalisation und den gegenseitigen Beziehungen dieser Gene, ihrer Identität oder Koppelung, nach den Mechanismen ihrer Auswirkung in Kern und Plasma der Einzelzelle, in der Regulation der Blütenplastik und Blütenfunktion zu besprechen sein.

f) Versuche zur Feststellung der *chemisch-physiologischen* Übereinstimmungen und Unterschiede zwischen diploidem Stempelgewebe und den Pollenkörnern lagen außerhalb des ohnehin weitgespannten Rahmens unserer eigenen Fragestellungen. Nicht ausgeschlossen dürfte sein, daß auch für die Primeln, wenn nicht für die Wildarten, so doch für einige der leicht zu kultivierenden, reich blühenden *Gartenformen* in dieser Hinsicht dereinst ähnliche Verhältnisse zur Feststellung kommen werden, wie sie für andere blütendimorphe Verwandtschaftskreise vermutet und für *Forsythia* erfolgreich nachgewiesen worden sind.

Literatur.

BABCOCK, E. B., and M. S. CAVE: A study of intra- and interspecific relations of *Crepis foetida* L. Z. Abstammgslehre **75**, 124—160 (1938). — BABCOCK, E. B., and M. B. HUGHES: A new type of self-sterility in plants. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **36**, 362—365 (1950). — BAKER, H. G.: Dimorphism and monomorphism in the *Plumbaginaceae*. I. Survey of family. Ann. of Bot., N.S. **12**, 207—219 (1948). — BATEMAN, A. J.: Self-incompatibility systems in Angiosperms. I. Theory. Heredity (Lond.) **6**, 285—310 (1952). — BATESON, W., and R. P. GREGORY: On the inheritance of heterostylism in *Primula*. Proc. roy. Soc. Lond., Ser. B **76**, 581—586 (1905). — BRIEGER, FR.: Selbststerilität und Kreuzungssterilität im Pflanzenreich und Tierreich. Monogr. Physiol. **21**, 395 (1930). — CROSBY, J. L.:

High proportions of homostyle plants in populations of *Primula vulgaris*. Nature (Lond.) **145**, 672 (1940). — Selection of an unfavourable gene-complex. Evolution **3**, 212—230 (1949). — DAHLGREN, K. V. O.: Zytologische und embryologische Studien über die Reihen *Primulales* und *Plumbaginales*. Kgl. sv. Vetenskapsakad. Hdl. **56**, 1—80 (1916/17). — Hur en Gullviva blir till (Embryologie und Cytologie von *Primula officinalis*). Sep.-Abdr. aus Naturens Liv. Stockholm, 10 S. 1928. — DARLINGTON, C. D., and K. MATHER: The Elements of Genetics. London 1949. — DARWIN, CH.: Über die Entstehung der Arten durch natürliche Zuchtwahl. 1859. Deutsche Übersetzung von J. V. CARUS, 7. Aufl. Stuttgart 1884. — On the two forms, or dimorphic condition in the species of *Primula*, and their remarkable sexual relations. J. Proc. Linn. Soc. Bot. **6**, 77—96 (1862). — Die verschiedenen Blütenformen an Pflanzen der nämlichen Art. Deutsche Übersetzung von J. V. CARUS. Stuttgart 1877. — EAST, E. M.: Self-sterility. Bibliogr. genet. **5**, 331—370 (1929). — Norms of pollen-tube growth in incompatible matings of self-sterile plants. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **20**, 225—230 (1934). — ERNST, A.: Genetische Studien über Heterostylie bei *Primula*. Arch. Klaus-Stiftg **1**, 13—62 (1925). — Zur Genetik bei Heterostylie. Verh. des 5. internat. Kongr. für Vererbungswiss., Berlin 1927. Z. Abstammungslehre Suppl. **1**, 635, 2 Textfig. — Untersuchungen zur Phänanalyse, zum Fertilitätsproblem und zur Genetik heterostyler Primeln. 1. *Primula viscosa* ALL. Arch. Klaus-Stiftg **8**, 1—215 (1933). — Heterostylie-Forschung. Versuche zur genetischen Analyse eines Organisations- und „Anpassungs"merkmales. Z. Abstammgslehre **71**, 156—230 (1936a). — Untersuchungen zur Phänanalyse, zum Fertilitätsproblem und zur Genetik heterostyler Primeln. 2. *Primula hortensis* WETTSTEIN. Arch. Klaus-Stiftg **11**, 1—280 (1936b). — Untersuchungen zur Phänanalyse, zum Fertilitätsproblem und zur Genetik heterostyler Primeln. 3. Die F_1-Bastarde *Pr. (hortensis* × *viscosa)*. Arch. Klaus-Stiftg **13**, 1—381 (1938). — Die Nachkommenschaften aus Kreuzungen zwischen dimorphen und monomorphen *Primula*-Arten der Sektion *Candelabra*. Arch. Klaus-Stiftg **18**, 87—233 (1943). — Primärer und sekundärer Blütenmonomorphismus bei Primeln. Österr. bot. Z. **100**, 235—255 (1953). — GERSTEL, D. U.: Self-Incompatibility studies in Guayule. II. Inheritance. Genetics **35**, 482—506 (1950). — GERSTEL, D. U., and M. E. RINER: Self-Incompatibility studies in Guayule. I. Pollen-tube behaviour. J. Hered. **41**, 49—55 (1950a). — HILDEBRAND, F.: Über die Heterostylie und Bastardierungen bei *Forsythia*. Bot. Ztg **52**, 191—200 (1894). — HUGHES, M. B., and E. B. BABCOCK: Self-Incompatibility in *Crepis foetida* (L.) subsp. *rhoeadifolia* (BIEB.) Schinz et Keller. Genetics **35**, 570—588 (1950). — KOBEL, F., P. CAMENZIND u. F. SCHUETZ: Züchtungsversuche mit *Primula malacoides* FRANCHET. Ber. schweiz. bot. Ges. **47**, 284—318 (1937). — KUHN, R., u. J. LOEW: Morphologie und Chemie der Staubgefäße von *Forsythia*. Chem. Ber. **82**, 474—479 (1949). — LAIBACH, F.: Zur Vererbung der physiologischen Heterostylieunterschiede. Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, 181—189 (1928). — LEWIS, D.: Incompatibility in plants. Its genetical and physiological synthesis. Nature (Lond.) **153**, 575—578 (1944). — Incompatibility in flowering plants. Biol. Rev. Cambridge philos. Soc. **24**, 472—496 (1949). — Structure of the incompatibility gene. 3. Types of spontaneous and induced mutation. Heredity (Lond.) **5**, 399—414 (1951). — MATHER, K.: Genetical control of incompatibility in Angiosperms and Fungi. Nature (Lond.) **153**, 392—394 (1944). — MOEWUS, F.: Zur Physiologie und Biochemie der Selbststerilität bei *Forsythia*. Biol. Zbl. **69**, 181—197 (1950). — MOEWUS, F., u. U. WOLFSCHLAG: Über Größenunterschiede von Pollenkörnern und Narbenpapillen bei einigen heterostylen Pflanzen. Z. Naturforsch. **7b**, 196—197 (1952). — RILEY, H. P.: The genetics and physiology of self-sterility in the genus *Capsella*. Genetics **21**, 24—39 (1936). — SCHOCH-BODMER, H.: Zur Frage der „Hemmungsstoffe" bei Heterostylen. Arch.

Klaus-Stiftg, Erg.-Bd. zu **20**, 403—416 (1945). — Schoch-Bodmer, H., u. P. Huber: Die Ernährung der Pollenschläuche durch das Leitgewebe. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **92**, 43—48 (1947). — Stout, A. B.: The genetics of incompatibilities in homomorphic flowering plants. Bot. Review **4**, 275—369 (1938). — Straub, J.: Zur Entwicklungsphysiologie der Selbststerilität von *Petunia*. Z. Naturforsch. **1**, 287—291 (1946). — Neue Ergebnisse der Selbststerilitätsforschung. Naturwiss. **35**, 23—26 (1948). — Tischler, G.: Analytische und experimentelle Studien zum Heterostylie-Problem bei *Primula*. Festschr. landwirtsch. Hochsch. Hohenheim, S. 254—273. 1918a. — Das Heterostylie-Problem. Biol. Zbl. **38**, 461—479 (1918b). — Ubisch, G. v.: Versuche über Vererbung und Fertilität bei Heterostylie und Blütenfüllung. Z. Bot. **15**, 193—232 (1923). — Genetisch-physiologische Analyse der Heterostylie. Bibliogr. genet. **2**, 287—342 (1925). — Das Fertilitätsproblem im Pflanzenreiche. Z. Abstammgslehre **47**, 225—241 (1934). — Winton, D. de, and J. B. S. Haldane: The Genetics of *Primula sinensis*. II. Segregation and interaction of factors in the diploid. J. Genet. **27**, 1—44 (1933). — Zollikofer, C.: Untersuchungen zum Fertilitätsproblem der Heterostylen. Planta (Berl.) **16**, 763—787 (1932).

Prof. Dr. Alfred Ernst
Botanisches Institut der Universität Zürich (Schweiz), Künstlergasse 16.

Planta, Bd. 42, S. 129—139 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Stuttgart.

ÜBER DAS QUELLUNGSVERHALTEN VON HOLZ ALS SUBSTANZ MIT ULTRAFILTERSTRUKTUR IN ABHÄNGIGKEIT VON GRÖSSE UND BAU DER QUELLUNGSMITTELMOLEKÜLE*.

Von

H. Ullrich.

(Unter experimenteller Mitwirkung von B. Ehrmann.)

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. April 1953.)

Nach W. Ruhland (1908, 1912a und b, Ruhland und Hoffmann 1926, Schönfelder 1930, Ruhland, Ullrich und Yamaha 1933) regelt das Protoplasma den passiven Stoffdurchtritt wie ein Ultrafilter. Wenn auch an den hierfür zugrundegelegten Untersuchungen Ruhlands und seiner Schüler (vgl. Ullrich 1948) verschiedentlich Kritik geübt worden ist, so lassen doch selbst die neuesten Veröffentlichungen immer wieder eine mehr oder weniger ausgeprägte Abhängigkeit der Permeabilität von der Molekülgröße der permeierenden Stoffe erkennen. Bogen (1950) hat wohl alle derartigen Einwände schon insofern entkräftet, als es durch Berücksichtigung der zwischenmolekularen Kräfte möglich ist, auch die Vorstellungen der Löslichkeits- und Adsorptionstheorien auf Ultrafilterstrukturen zurückzuführen.

Eine derartige Feststellung der Allgemeingültigkeit des Ultrafilterprinzips fordert den Schluß, daß die die Permeation regelnden plasmatischen Strukturen „Poren" aufweisen müssen, die infolge Verringerung des Diffusionsquerschnitts und Erhöhung der Reibung eine Verlangsamung des passiven Stoffdurchtritts, bzw. bei Formulierung nach dem Fickschen Diffusionsgesetz eine Erhöhung der Diffusionskonstanten verursachen.

Nun ist zweifellos die Plasmastruktur nicht absolut starr. Wenn dennoch Ruhland und Heilmann (1951) bei Behandlung von *Beggiatoa mirabilis* mit aliphatischen Alkoholen eine wesentliche Porenverengung mit deren zunehmender Molekülgröße feststellen konnten, die durch gesteigerte Abbremsung des Durchtritts anderer größerer Moleküle experimentell erfaßbar war, so ergibt sich dadurch mit Notwendigkeit die Annahme, daß dem in den *Beggiatoa*-Zellen vorhandenen „Porensystem" eine gewisse Starrheit zukommen muß. Die adsorptive

* Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. W. Ruhland, meinem hochverehrten Lehrer, zu seinem 75. Geburtstag in Dankbarkeit gewidmet.

Belegung der porenbegrenzenden Strukturen mit polaren Alkoholmolekülen hat also offenbar keine beliebige Dilatation der plasmatischen Raumnetzstruktur zur Folge. Das dürfte verschiedene Ursachen haben: Zunächst einmal wird die äußere Plasmagrenzschicht, die der Zellwand eng anliegt, durch diese in ihrer Ausdehnung weitgehend behindert. Zum anderen könnte auch das protoplasmatische Raumgerüst, das nach unseren heutigen Vorstellungen wohl wesentlich von Eiweißketten gebildet wird, so wenig expandierbar sein, daß es einer Porenerweiterung — und damit auch einer dilatierenden Quellung — auf Grund seiner mechanischen Festigkeit entgegenwirkt. Allerdings könnten gewisse Beobachtungen Ullrichs (1936) dagegensprechen, nach denen die äußere Grenzschicht der nackten Eier von *Cystosira barbata* bei Darbietung höhermolekularer, mehr oder weniger lipophiler Ester (Trimethyl- und Triäthylcitrat) nach Kontraktion durch osmotischen Wasserentzug zunächst dilatiert und schließlich einreißt. Man könnte daraus schließen, daß das protoplasmatische Maschengerüst nur bescheidenen mechanischen Beanspruchungen bei der Einlagerung von Molekülen mit lipophilen Gruppen gewachsen ist. Es ergab sich aber die Frage, in welchem Umfange ein mit hoher mechanischer Festigkeit ausgestattetes, aber doch begrenzt quellbares Strukturgerüst unter der Einwirkung polarer Substanzen verschiedener Molekülgröße dilatiert, und bei welcher Molekülgröße des Quellungsmittels dem Quellungsvermögen dadurch eine Grenze gesetzt ist, daß die Quellungsmittelmoleküle nicht mehr in die vorgegebenen Maschenräume eintreten können.

Als Modell eines solchen Raumgerüstes scheint mir *Holz* geeignet. Wenn dessen Struktur auch nicht bis in die allerfeinsten Einzelheiten bekannt ist, so ist doch sicher, daß wir diese in ihrem Feinbau als ein Raumgerüst von Zelluloseketten (Mizellen) auffassen können, die sich zu Fibrillen zusammenschließen; um die infolge ihrer zahlreichen OH-Gruppen hydrophilen Zelluloseketten sind in noch nicht exakt formulierbarer Weise zum Teil hydrophobe Ligninsubstanzen angeordnet, die das ganze Gerüstwerk verfestigen helfen und seine Dilatierbarkeit auf einen begrenzten Umfang herabsetzen. So bietet sich die Möglichkeit, aus dem Quellungsverhalten Rückschlüsse auf den Einfluß der Molekülgröße sowie des Molekülbaues des Quellungsmittels auf sein Eindringvermögen in die Poren des Holzes zu ziehen. Daraus lassen sich wieder einige Konsequenzen ziehen für unsere Vorstellungen von der Plasmastruktur nach der Ultrafiltertheorie.

Experimentelle Grundlagen.

Die ersten Orientierungsversuche zu dieser Frage wurden 1943/44 von H. Ullrich angestellt; die Protokolle darüber gingen leider durch Kriegseinwirkung verloren. Als Grundlage für diese Veröffentlichung sollen nun im wesentlichen die 1952/53 durch B. Ehrmann ausgeführten, eingehenderen Experimente dienen.

Methodisches.

A. Quantitative Bestimmung der Quellung des Holzes.

Hierfür schienen zunächst verschiedene Verfahren geeignet:

1. Gewichtsmäßige Erfassung des aufgenommenen Quellungsmittels. Abgesehen davon, daß hierbei neben der erwünschten Messung der zur eigentlichen Quellung, d. h. Dilatation des Holzes verbrauchten Flüssigkeitsmenge auch die nicht geringen Anteile des Quellungsmittels mit erfaßt werden, die die im Gewebe schon vorhandenen mikroskopischen Lücken wie Zellumina, Interzellularen, interfibrilläre Räume usw. ausfüllen, und somit erhebliche Fehler oder mindestens umständliche Rechnungen verursachten, waren allein schon die notwendigen Wägungen mit so zahlreichen Fehlern behaftet, die durch schwierige Entfernung des oberflächlich anhaftenden Quellungsmittels, Verdunstung leicht flüchtiger Quellungsmittel während der Wägung usw. entstanden und kaum auszuschalten waren, daß auf diese Methode verzichtet wurde.

2. Volumetrische Bestimmung des Quellungsgrades. a) Die zunächst zweckmäßig erscheinende Messung des gesamten Volumens der zu untersuchenden Holzproben in besonders dafür konstruierten, mit Paraffinöl bzw. Quecksilber gefüllten Dilatometern wies ebenfalls erhebliche Mängel auf. Die zur Dilatometerfüllung verwendeten Flüssigkeiten waren zwar gegen den zu quellenden Körper wie gegen das Quellungsmittel inert, blieben aber zum Teil an der Oberfläche der behandelten Holzstücke, zumindest in deren Unebenheiten, haften oder drangen sogar in Tracheen und andere Hohlräume ein und störten auf diese Weise Messung und Weiterbehandlung mit dem Quellungsmittel. Deshalb wurde auch diese Methode verworfen.

b) Holz wird bekanntlich beim Quellen in den verschiedenen Richtungen unterschiedlich dilatiert, z. B. das von *Fagus silvatica* in der Längsrichtung fast gar nicht (maximal 0,3%), in radialer Richtung etwas (bis etwa 6,3%), in tangentialer dagegen recht stark (in manchen Fällen bis 15%). Daraus ergab sich die Möglichkeit, durch Messung allein der tangentialen Dilatation ein verhältnismäßig genaues relatives Maß für den Quellungszustand zu erhalten. Diese vereinfachte Methode einer eindimensionalen Dilatationsmessung führte dann auch durchwegs zu brauchbaren Resultaten.

B. Vorbereitung der Holzproben für die Versuche.

Es erwies sich wegen der bei dicken Holzstücken bis zur Erreichung eines konstanten Quellungsgrades verstreichenden, sehr langen Zeit als zweckmäßig, Furniere von nur etwa 1 mm Dicke zu verwenden, die ihre maximale Quellung normalerweise nach spätestens 20 Tagen erreichten. Die genau tangential geschnittenen Furnierstücke von etwa 1 cm Länge und 2,5—3 cm Breite wurden zunächst sorgfältig bis zur Gewichtskonstanz (etwa 2—4 Wochen) bei Zimmertemperatur im Wasserstrahlvakuum über $CaCl_2$ und P_2O_5 getrocknet. Eine Trocknung in der Hitze ist unzweckmäßig, weil dann selbst in Wasser keine maximale Quellung mehr erzielbar ist. Ferner hatte E. Sonnleitner (1932) bei der Beobachtung der Hitzetrocknung von Holz einen recht unterschiedlichen zeitlichen Verlauf der Trockenschrumpfung in den verschiedenen Richtungen festgestellt (zeitliche Dauer bei *Picea excelsa:* axial : radial : tangential = 1 : 3,2 : 3,4; bei *Fagus silvatica:* 1 : 3,6 : 4). Dies hätte zu allerhand Störungen führen können.

C. Methodik der Quellungsversuche.

Die getrockneten Holzproben wurden mit einer auf 0,01 mm ablesbaren Schublehre ohne Anwendung von Druck ausgemessen (Meßfehler innerhalb großer Serien maximal $\pm 2\%$) und in mit den zu erprobenden Quellungsmitteln gefüllte Reagenz-

gläser gebracht, die mit Chloroprengummistopfen verschlossen im Thermostaten bei 16° C gehalten wurden. In bestimmten, den Erfordernissen angepaßten Zeitabständen von anfangs je $^1/_4$ Std, dann $^1/_2$, 1, 2, 4, 8, 16, 24 und schließlich, soweit möglich, 48 Std wurde die Breite der Holzproben erneut gemessen. In vielen Fällen war die Quellung bereits nach einer Woche so nahe ihrem konstanten Endwert, daß die Messung dann nurmehr 48stündlich zu erfolgen brauchte. Um möglichst statistisch gesicherte Resultate zu erhalten, wurde stets mit Meßreihen von je 3 Holzproben parallel gearbeitet und diese Versuche 3—4 mal wiederholt. Die arithmetischen Mittelwerte aus allen Parallelversuchen wurden dann graphisch verwertet.

D. Verwendete Quellungsmittel.

1. Es wurde zunächst eine Alkoholreihe (einwertige aliphatische Alkohole) mit zunehmender Molekulargröße untersucht, bestehend aus „Hydrol" (doppelt dest. H_2O), Methanol (Riedel de Haen, p. A.), Äthanol (Merck, p. A.), n-Propanol (Merck), n-Butanol (Merck), iso-Butanol (Merck), n-Pentanol (Merck, p. A.), iso-Pentanol, Hexanol, Heptanol, Octanol (die 4 letzten Substanzen sind von unbekannter Herkunft).

Alle diese Alkohole wurden mit $CuSO_4$ entwässert und vor dem Versuch nochmals destilliert.

2. Außerdem wurden Quellungsversuche mit Dioxan-1,4 (Ciba, purum) und Glycerin (Merck, p. A., doppelt dest.), das wie die anderen Alkohole behandelt wurde, durchgeführt. Die Absicht, auch Glykol heranzuziehen, scheiterte daran, daß solches nicht in ausreichend reinem Zustand zu erhalten war.

Die völlige Wasserfreiheit der angeführten Quellungsmittel war deshalb notwendig, weil jegliche Konkurrenz im Eindringen von Wasser und dem eigentlich zu untersuchenden Quellungsmittel und ebenso jede Hydrathüllenbildung der hydrophilen Alkohole unterbunden werden mußten.

3. Zu Orientierungsversuchen (1943/44) waren auch Benzol, Xylol (käufliches Isomerengemisch) und Petroläther als ausgesprochen lipophile Substanzen herangezogen worden, schieden aber später völlig aus, da sie keinerlei tangentiale Dilatation des Holzes bewirkten.

E. Benutzte Holzarten.

Es wurden ausschließlich sorgfältig tangential geschnittene, gleichmäßige, ast- und harzgangfreie Furniere aus Kern und Splint verwendet, für deren Beschaffung dem Institut für Technische Holzforschung an der Technischen Hochschule Stuttgart an dieser Stelle besonders gedankt werden soll.

Angiospermenhölzer: *Fraxinus excelsior* (Kern und Splint), *Quercus pedunculata* (Kern und Splint), *Acer platanoides* (Kern und Splint), *Fagus silvatica* (Kern und Splint), *Carpinus Betulus* (Kern), *Betula verrucosa* (Kern).

Coniferenhölzer: *Abies alba* (Kern und Splint), *Picea excelsa* (Kern und Splint).

Versuchsergebnisse.

Da für das hier zur Diskussion stehende Problem nur der zeitliche Quellungsverlauf und der Grad der Endquellung von Bedeutung sind, sollen nur 2 Hölzer, Rotbuche (*Fagus silvatica*) und Tanne (*Abies alba*), als Beispiele herausgegriffen und für das Quellungsverhalten ihres Kern- und Splintholzes je ein Diagramm (Abb. 1—4) gegeben werden. Bei den anderen untersuchten Holzarten ergaben sich recht ähnliche Quellungsverhältnisse.

Durch *Wasser* wurden allgemein die stärksten Quellungen hervorgerufen, und dies auch sehr rasch, d. h. innerhalb von 24 Std oder meist wesentlich darunter. Eichensplintholz, Fichtenkernholz sowie Rot-

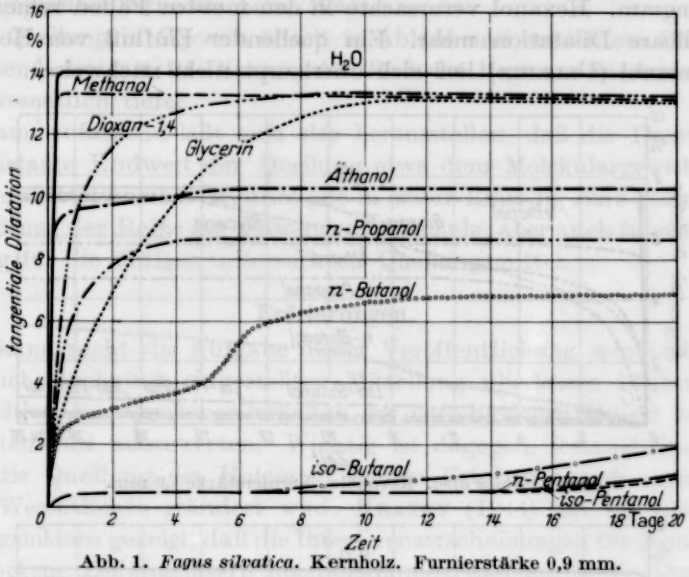


Abb. 1. *Fagus silvatica*. Kernholz. Furnierstärke 0,9 mm.

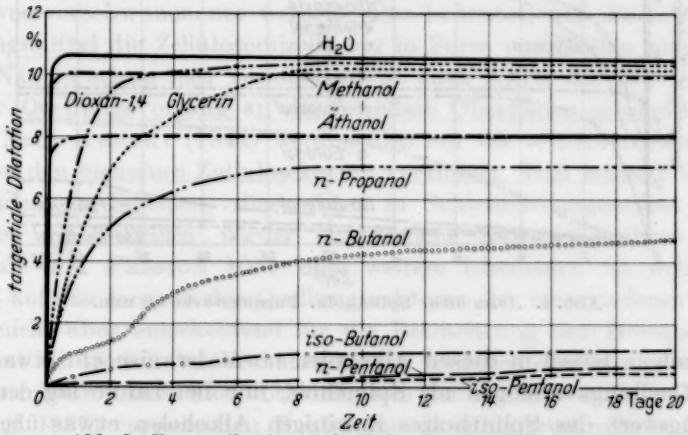


Abb. 2. *Fagus silvatica*. Splintholz. Furnierstärke 0,9 mm.

buchenkern- und -splintholz benötigten eine längere Quellungszeit als die übrigen untersuchten Holzarten, Eichenkernholz erreichte seine maximale Quellung sogar erst nach etwa 48 Std.

In *einwertigen aliphatischen Alkoholen* ergaben sich allgemein eine Abnahme des Endquellungsgrades und eine Verlängerung der Quellungsdauer mit zunehmender Molekülgröße (zunehmendem Molekulargewicht),

wobei die herangezogenen Isoformen kleinere Endwerte erzielten als die Normalalkohole. Beim n- und iso-Pentanol war eine solche Differenz gerade noch deutlich erkennbar, die Quellung jedoch schon recht schwach und langsam. Hexanol verursachte in den meisten Fällen keine sicher feststellbare Dilatation mehr. Ein quellender Einfluß von Heptanol und Octanol (ULLRICH) ließ sich überhaupt nicht nachweisen.

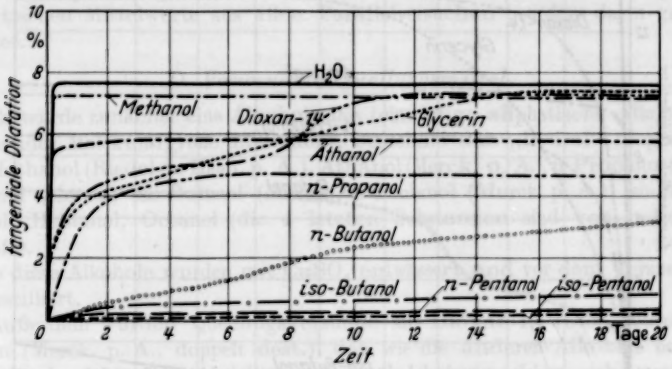


Abb. 3. *Abies alba*. Kernholz. Furnierstärke 1,0 mm.

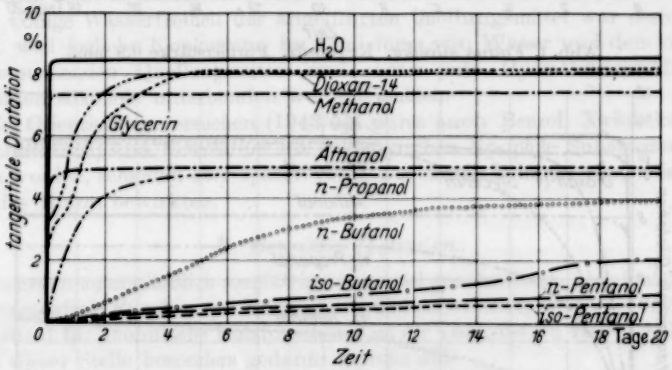


Abb. 4. *Abies alba*. Splintholz. Furnierstärke 1,0 mm.

Kernholz besaß in diesen Alkoholen normalerweise ein etwas stärkeres Quellungsvermögen als Splintholz, nur bei Tanne lag der Endquellungswert des Splintholzes in einigen Alkoholen etwas über dem des Kernholzes.

Der zeitliche Verlauf der Quellung mit Butanol wies bei einem Teil der Hölzer (10 von insgesamt 16 untersuchten Proben) gewisse Unregelmäßigkeiten auf. Nach dem üblichen anfänglichen Ansteigen der Quellungskurve trat hier eine vorübergehende Abnahme des Quellens ein, und erst nach längerer Zeit erfolgte ein neuer Anstieg bis zum Erreichen des Quellungsendwertes (vgl. die Butanolkurven in Abb. 1 und 2).

Die mit *1,4-Dioxan* erzielte Endquellung stand derjenigen von Wasser nur wenig nach, doch war der zeitliche Verlauf der Quellung hier bedeutend langsamer; die Quellungszeit lag in der Größenordnung von Tagen gegenüber Stunden beim Wasser.

Die Quellung in *Glycerin* ähnelt in Ablauf und erreichtem Endwert weitgehend der mit 1,4-Dioxan; der Endwert liegt nur in Ausnahmefällen wesentlich tiefer.

Zusammenfassend läßt sich also herausstellen, daß die Dauer und der konstante Endwert der Quellung etwa dem Molekulargewicht der Quellungsmittel antibat ist. Dies gilt in erster Linie für eine gesonderte Betrachtung der Reihe der einwertigen Alkohole, aber auch in gewissem Umfang für die übrigen untersuchten Quellungsmittel.

Erörterungen.

Es kann nicht die Aufgabe dieser Veröffentlichung sein und muß einer mehr technisch eingestellten Mitteilung überlassen bleiben, die Unterschiede im Quellungsverhalten der verschiedenen Hölzer herauszuarbeiten und auszuwerten. Wichtig ist dagegen, festzustellen, daß durch die Quellung des Holzes in seinem Feinbau anordnungsmäßig nichts Wesentliches geändert wird. KRATKY (1944) hat an Röntgenbeugungsbildern gezeigt, daß die Interferenzerscheinungen für gequollene und trockene Zellulosefasern übereinstimmen und durch die Quellung nur etwas verschwommener werden. Das bedeutet, daß die neutralen Quellungsmittel die Zellulosemizelle nur in Form von Hüllen umgeben, wie es NÄGELI schon 1881 vermutete (vgl. auch KATZ, der 1918 betont, daß der Quellungsvorgang an die mizellare Oberfläche gebunden sein muß). Nach KRATKY (1944) werden also nur die seitlichen Abstände zwischen den einzelnen Zelluloseketten verändert. Daß letztere in den Zellwänden zu Fibrillen, diese dann in Schichten angeordnet sind, in denen die Fibrillen wieder verschiedene Neigung besitzen (vgl. WARDROP und PRESTON 1951, dort weitere Literatur), ist wohl von Einfluß auf das Ausmaß der Quellungsvektoren der verschiedenen Holzarten, nicht aber entscheidend für die Betrachtung der Holzquellung insgesamt als Modell des Verhaltens einer begrenzt quellbar gedachten Plasmastruktur. Auch das Vorhandensein der zuerst von FREY-WYSSLING (vgl. 1937) vermessenen Hohlräume als submikroskopische Kapillarsysteme ist bedeutungslos dafür, erhöht nur den Anteil nicht quellungsbedingter Substanzaufnahme. Dagegen interessiert die Größe der intermizellaren Räume, die nach FREY-WYSSLING größenordnungsmäßig mit etwa 6 Å anzusetzen ist. Die Verholzung verschließt nun nach FRENZEL (1929) nicht alle Kapillarsysteme, so daß unsere Quellungsmittel wohl an die inneren Oberflächen von Zellulose- und Ligninbauelementen gelangen können. Doch ist das Eindringungsvermögen dieser Substanzen

durch die nun verringerten Querschnitte dieser Hohlraumsysteme von der Größe der Quellungsmittelmoleküle abhängig, d. h. mit zunehmendem Molekulargewicht wird die Reibung der eindringenden Moleküle und ihr Festhaften an den aus Zellulose- und Ligninsubstanzen aufgebauten Hohlraumwänden immer größer, ihre Wandergeschwindigkeit also verlangsamt, bis nach Erreichen einer bestimmten Grenze der Molekülgröße schließlich überhaupt kein Eindringen mehr möglich ist. Die Flüssigkeiten können dann nur die im Holz vorhandenen größeren Hohlräume ausfüllen, also das Holz tränken, aber nicht verquellen.

Die experimentellen Beobachtungen stimmen mit solchen Vorstellungen gut überein, sofern man die Hydrophilie der Quellungsmittel und eventuell auch ihre Polarität berücksichtigt, also nach Möglichkeit ein- und mehrwertige Alkohole usw. getrennt betrachtet.

Nach Frey-Wyssling und Speich (1942) konnten Benzol und Xylol als rein hydrophobe (lipophile) Flüssigkeiten keinen Stäbchendoppelbrechungseffekt an Zellulosefasern erzeugen, während Alkohole einen solchen hervorriefen. Man muß daher wohl annehmen, daß erstere nicht in die Fibrillen eindringen, diese also nur umhüllen, letztere dagegen eindringen und die intermizellaren Räume erfüllen und somit die Fasern imbibieren, woraus sich das beobachtete optische Verhalten erklärt. Frey-Wyssling konnte zeigen, daß in der von lipophiler Flüssigkeit umschlossenen Faser noch ein umfangreiches, jedoch nicht sichtbar zu machendes Hohlraumsystem vorhanden ist. Man muß daraus schließen, daß mangelnde Benetzbarkeit der kapillaren Oberflächen das Eindringen lipophiler Flüssigkeiten verhindert. Verholzung ändert daran nichts Wesentliches.

Nun konnten H. Sächtling und H. Zocher (1935), die die Quellung von Fichtenholz und isoliertem Lignin in verschiedenen Quellungsmitteln verglichen, zeigen, daß Ligninsubstanzen allein sehr stark verquellen können. Doch muß man dabei bedenken, daß nach Freudenberg (1933) selbst bei Cuproxam-Lignin keinerlei Gewähr für die unveränderte chemische Struktur im Vergleich zum Lignin in situ gegeben ist. In den Sächtling-Zocherschen Versuchen hat nun Aceton das Lignin stärker als das Holz verquollen; in Wasser lagen die Verhältnisse umgekehrt; Methanol verursachte etwa gleichstarke Quellung. Lignineinlagerung setzt demnach offenbar die Zelluloseverquellung herab, hat aber bekanntlich schon eine bei der Einlagerung eintretende Anschwellung der Zellwände zur Folge. Deshalb ist es nicht verwunderlich, daß die Zellwand dann in Wasser herabgesetzte Quellung zeigt, zumal die Quellung ihrer Zellulosefibrillen jetzt strukturell eindeutiger ausgerichtet ist.

Ein wesentlicher Einfluß des Dipolmoments der Quellungsmittelmoleküle scheint, soweit die Versuchsergebnisse einen solchen Schluß zulassen, nicht vorzuliegen. Bevor man darüber etwas Eindeutiges aussagen könnte, müßten noch weitere Versuche angestellt werden.

Die oben erwähnte Grenze für die Molekülgröße quellend wirkender einwertiger Alkohole liegt nun auffallenderweise bei Alkoholen mit 6C-Atomen. Verwendet man als solchen n-Hexanol, dem eine Moleküllänge von 7,7 Å (s. RUHLAND und HEILMANN 1951) zukommt, so übertrifft diese den von FREY-WYSSLING (1936) angegebenen Intermizellarabstand von etwa 6 Å, das Molekül kann also nicht mehr glatt in die Intermizellarräume eingelagert und aufgerichtet werden und auf diese Weise nicht mehr quellend wirken. Ich möchte darin eine Parallele sehen zu den Darlegungen RUHLANDs (RUHLAND und HEILMANN 1951, S. 109ff.), der eine filmartige Auskleidung plasmatischer Poren durch gerichtet eingelagerte Alkoholmoleküle vermutet. Allerdings faßt RUHLAND dabei vornehmlich große Poren, etwa die im Plasma von *Beggiatoa*, ins Auge, während die im Holz vorhandenen Porendurchmesser eher an die Moleküldimensionen der durch das Plasma von Zellen höherer Pflanzen bereits verhältnismäßig schwer penetrierenden Glukose (Länge 5,15 Å) erinnern.

Eine direkte Beziehung des Quellungsverhaltens von Holz zum Molekularvolumen und zur Molrefraktion des Quellungsmittels läßt sich vorläufig noch nicht formulieren. Eine solche müßte nämlich der Tatsache gerecht werden, daß die Iso-Alkohole weniger und langsamer quellend wirken als die gestreckten. Auch das eigenartige vorübergehende Stagnieren des Quellens in manchen Flüssigkeiten, wie z. B. Butanol, bedarf hierzu noch einer Klärung. Eventuell ließen sich aus dieser Erscheinung gewisse Rückschlüsse auf den Holzaufbau ziehen, was jedoch für die Betrachtungen der vorliegenden Arbeit zunächst ohne besonderen Belang ist, um so mehr aber für unsere Auffassungen vom Holz als technischem Rohstoff. Experimentell müßte allerdings dazu durch weitere Variation der Quellungsmittel erst noch die nötige Basis geschaffen werden.

Eine Konkurrenz zwischen Wasser und zu prüfendem Quellungsmittel im Eindringen in die Holzstruktur, die ja unter normalen Umständen eine weitgehende Begünstigung des Wassers und damit eine Unklarheit in den Resultaten ergeben hätte, wurde durch sorgfältige Trocknung ausgeschaltet. Auffallend ist nun, daß die durch die beiden sehr hydrophilen Quellungsmittel Glycerin und 1,4-Dioxan hervorgerufenen Quellungswerte, die vermutlich infolge der sehr ähnlichen Molekülgröße beider Substanzen meist nahe beieinanderlagen, den mit Wasser erzielten erstaunlich nahe kamen, also die von einwertigen Alkoholen ähnlicher Molekülgröße (Propanol, Butanol usw.) weit übertrafen. Die Permeationsgeschwindigkeit ist hier zwar infolge der Größe

der Moleküle verringert, doch läßt die weitgehende Hydrophilie eine Einlagerung von weit mehr Molekülen in die Intermizellarräume zu, als auf Grund allein des Molekulargewichts zu erwarten wäre.

Im Gegensatz zum Verhalten des Plasmas, das Substanzen mit zunehmender Länge der lipophilen Alkylreste leichter hindurchtreten läßt, kommt also im Holz mit seinem hydrophilen Charakter allein die normalerweise zu erwartende umgekehrte Abhängigkeit der Penetration von der Molekülgröße zur Geltung. In gleicher Weise fällt auch die beim Durchtritt durch Plasma feststellbare, an und für sich bis zu Bogens Darlegungen etwas erstaunliche Bevorzugung lipophiler Substanzen beim Holz weg. Hierfür könnte man die außerordentlich scharf begrenzte „Maschenweite" der Holzstruktur verantwortlich machen, womit wiederum eine Bestätigung unserer Vorstellungen von biologischen Strukturen nach dem Schema eines Ultrafilters geliefert wäre.

Ein entsprechendes Verhalten des plasmatischen „Molekülsiebs" dürfte nun nur solange zu erwarten sein, als die Plasmagrenzschicht durch die anliegende, verhältnismäßig starre Zellwand gestützt wird. Sobald diese Fixierung der Porenstruktur in der Plasmagrenzschicht wegfällt — was ja bei nackten Zellen und bei Plasmolyse, wie sie bei Untersuchungen nach dem plasmometrischen Verfahren notwendig eintreten muß, der Fall ist — ist eine Änderung der Maschenweite in mehr oder weniger unkontrollierbarer Weise möglich. Polare Substanzen usw. können nun auf das nicht mehr so starre Plasmagerüst dilatierend wirken (etwa nach dem für Holz gegebenen Schema, nur wesentlich stärker, da die mechanische Festigkeit wegfällt) und unter gleichzeitiger Mitwirkung von zwischenmolekularen Kräften im Sinne der Ausführungen Bogens (1950) eine andere Permeationsgeschwindigkeit vortäuschen, als ihnen im nicht plasmolysierten Plasma zukäme. Auf diese Weise wären sogar Fehler bei der Aufstellung von Permeabilitätsreihen usw. denkbar. Im übrigen weisen auf diese Möglichkeit schon die Untersuchungen über Permeabilitätsänderungen bei Neubildung von Plasmagrenzschichten infolge Plasmolyse durch Ruhland, Ullrich und Endo (1938) hin.

Durch die hier gegebenen Ausführungen wird die Vorstellung von der Ultrafilternatur plasmatischer Grenzstrukturen wieder von einer ganz anderen Seite her beleuchtet.

Zusammenfassung.

An sauber tangential geschnittenen Furnierstreifen einiger Holzarten wird die Quellung in der Tangentialrichtung untersucht. Bei sorgfältig wasserfreiem Arbeiten nehmen in der Reihe der aliphatischen primären Alkohole C_1—C_6 mit zunehmender C-Kette die Quellungsgeschwindigkeit und der Grad der konstanten Endquellung ab und er-

reichen beim Hexanol praktisch den Nullwert. Iso-Alkohole wirken schwächer quellend als Normalformen. Von den anderen untersuchten Quellungsmitteln erzielt Wasser die stärkste Quellung überhaupt, dann folgen 1,4-Dioxan und Glycerin.

Diese Ergebnisse lassen Holz als eine Substanz mit ziemlich starren hydrophilen Poren erscheinen und lassen Rückschlüsse zu auf die plasmatischen Porenstrukturen, die die Permeabilität im Sinne der Ultrafiltertheorie regeln.

Literatur.

BOGEN, H.-J.: Kritische Untersuchungen über Permeabilitätsreihen. Planta (Berl.) **38**, 65—90 (1950). — FRENZEL, P.: Über die Porengrößen einiger pflanzlicher Zellmembranen. Planta (Berl.) **8**, 642—665 (1929). — FREUDENBERG, K.: Tannin, Zellulose und Lignin. Berlin 1933. — FREY-WYSSLING, A.: Der Aufbau pflanzlicher Zellwände. Protoplasma (Wien) **25**, 261—300 (1936). — FREY-WYSSLING, A., u. H. SPEICH: Über die Durchdringbarkeit der Zellulosefaser. Helvet. chim. Acta **25**, 1474—1484 (1942). — RUHLAND, W.: Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jb. wiss. Bot. **46**, 1—54 (1908). — Die Plasmahaut als Ultrafilter bei der Kolloidaufnahme. Ber. dtsch. bot. Ges. **30**, 139—141 (1912a). — Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jb. wiss. Bot. **51**, 376—431 (1912b). — RUHLAND, W., u. U. HEILMANN: Über die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis* für Anelektrolyte bei Narkose mit den homologen Alkoholen C_1—C_9, als Beitrag zur Ultrafiltertheorie. Planta (Berl.) **39**, 91—120 (1951). — RUHLAND, W., u. C. HOFFMANN: Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Planta (Berl.) **1**, 1—83 (1926). — RUHLAND, W., H. ULLRICH u. S. ENDO: Untersuchungen zu den „spezifischen Permeabilitätsreihen" HÖFLERS I. Zur Frage der Alkoholpermeabilität von Pflanzenzellen unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Planta (Berl.) **27**, 650—668 (1938). — RUHLAND, W., H. ULLRICH u. G. YAMAHA: Über den Durchtritt von Elektrolyten mit organischem Anion und einwertigem Kation in die Zellen von *Beggiatoa mirabilis*. Planta (Berl.) **18**, 338—382 (1933). — SÄCHTLING, H., u. H. ZOCHER: Untersuchungen über die Feinstruktur des Holzes. Kolloid-Z. **72**, 336—345 (1935). — SCHÖNFELDER, S.: Weitere Untersuchungen über die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis* nebst kritischen Ausführungen zum Gesamtproblem der Permeabilität. Planta (Berl.) **12**, 414—504 (1930). — SONNLEITNER, E.: Verlauf der Feuchtigkeit innerhalb des Holzes während der Trocknung. Diss. T. H. Stuttgart, 1932. — ULLRICH, H.: Permeabilität und Plasmagrenzstruktur bei pflanzlichen Zellen. Protoplasma (Wien) **24**, 183—191 (1936). — Permeabilität und Intrabilität pflanzlicher Zellen und Plasmagrenzstruktur. Arch. exper. Zellforsch. **22**, 496—500 (1939). — Die Protoplasma-Permeabilität. Naturwiss. **35**, 111—118 (1948). — WARDROP, A. B., and R. D. PRESTON: The submicroscopic organization of the cell wall in Conifer tracheids and wood fibres. J. of exper. Bot. **2**, 20—30 (1951).

Professor Dr. H. ULLRICH, Botanisches Institut der Universität, Stuttgart-Berg, Cannstatter Straße 212.

Planta, Bd. 42, S. 140—155 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. L.

BEITRÄGE ZUR PHYSIOLOGIE DER NICHTOSMOTISCHEN WASSERAUFNAHME*.

Von

HANS JOACHIM BOGEN.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. April 1953.)

A. Einleitung.

Die quantitative Auswertung von Plasmolyse- und Deplasmolyseversuchen (DE VRIES 1888, später insbesondere HÖFLER 1918, 1934) erfolgt bekanntlich nach der sog. osmotischen Zustandsgleichung

$$O = C \cdot G,$$

d. h. der Plasmolysegrad G einer Zelle bzw. der Wassergehalt ihrer Vakuole wird ausschließlich bestimmt durch die osmotischen Konzentrationen im Zellsaft (O), und in der plasmolysierenden Außenlösung (C). Man kann daher den Plasmolysegrad als Maß für den osmotischen Wert des Zellsaftes, die gemessene Zunahme des Plasmolysegrades im Deplasmolyseversuch als Maß für die osmotische Stoffaufnahme betrachten. Die physikalischen Grundlagen der Plasmolyse stehen mithin seit langem fest (wobei lediglich von Begleiterscheinungen wie z. B. Plasmolyseform abzusehen ist), und die plasmolytische Methode kann nur noch insofern neue Ergebnisse erbringen, als sie zur Erweiterung unserer Kenntnisse über die physikalisch definierte Permeation an möglichst vielen Objekten und unter möglichst weit abgewandelten Bedingungen beiträgt.

Eigene frühere Untersuchungen (BOGEN und PRELL 1953) hatten indessen gezeigt, daß der Plasmolysegrad einer Zelle durch das Verhältnis O/C *nicht* ausreichend definiert ist. Verändern wir z. B. die Konzentration C, so ist der sich neu einstellende Plasmolysegrad erheblich verschieden vom theoretisch auf Grund der ersten Messungen zu erwartenden. Ebenso ergeben sich beträchtliche Differenzen, wenn man in eine plasmolysierte Zelle eine gewisse Stoffmenge permeieren läßt, danach den Plasmolysegrad erneut bestimmt und ihn vergleicht mit demjenigen Wert, der an Hand der Permeationskonstante des permeierten Stoffes und bei strenger Gültigkeit der Zustandsgleichung theoretisch berechnet werden kann. Diese Befunde hatten zunächst zur Aufdeckung eines „osmotisch nicht veränderlichen Volumenanteils" der Vakuole geführt, des weiteren aber vermuten lassen, daß neben der

* Meinem hochverehrten Lehrer WILHELM RUHLAND zum 75. Geburtstage in Dankbarkeit gewidmet.

osmotischen Stoffaufnahme (= Permeation s. str.) noch meta- und nichtosmotische Aufnahmemechanismen bestehen. (Zur Definition vgl. BOGEN 1951). Diese können z. B. für Wasser ansehnliche „physiologische Saugkräfte" entwickeln, die vom osmotischen Potential weitgehend unabhängig sind und bei der Bewertung plasmolytischer Daten nicht mehr vernachlässigt werden dürfen.

Damit ist es aber möglich, das nichtosmotische Aufnahmevermögen von der osmotischen Saugkraft methodisch zu trennen: Wenn man eine plasmolysierte Zelle unter konstanten osmotischen Bedingungen hält, ist ihr reales „osmotisches Saugvermögen" für Wasser gleich Null, und alle etwa auftretenden Volumänderungen des Protoplasten sind meta- oder nichtosmotisch bedingt, soweit eine Permeation gelöster Substanzen ausgeschlossen ist. Wir verwenden mithin den so abgewandelten Plasmolyseversuch nunmehr als neues methodisches Mittel, um gewisse physiologische Vorgänge zu untersuchen, die im Inneren der Zelle ablaufen. Indem wir — im Gegensatz zu den Versuchen anderer Autoren an Gewebeblöcken oder ganzen Wurzeln — *an der einzelnen* Zelle arbeiten, kann es ferner gelingen, die mit „metabolisch kontrollierter Stoffaufnahme" vorerst nur summarisch umschriebenen Prozesse genauer als bisher zu erfassen und gegebenenfalls in ihre einzelnen Komponenten aufzugliedern.

Die Existenz solcher Prozesse ist schon seit einiger Zeit bekannt; es sei nur an die mit der Atmung gekoppelte Aufnahme von Ionen (LUNDEGÅRDH 1950), Farbstoffen (GOLDACRE 1952) und Wasser (REINDERS 1942, HACKETT und THIMANN 1950, 1952) erinnert. Wie die lebhafte Diskussion über die elektrochemische Theorie der Anionenatmung (LUNDEGÅRDH), über die „carrier"-Theorie (GOLDACRE) usw. indessen zeigen, ist ihre Natur noch nicht genügend geklärt. Wir hoffen, mit der neuen Methode weitere Beiträge zu dem Problem liefern zu können. Einige ausgewählte erste Ergebnisse seien im folgenden kurz mitgeteilt.

B. Methodischer Teil.

Als *Versuchsobjekte* verwenden wir *Taraxacum officinale* und *Rhoeo discolor*.

a) *Taraxacum* (Freilandmaterial). Voll ausgewachsene, nicht zu alte Blätter; Epidermiszellen der Blattstielunterseite, etwa 2—3 cm über der Blattbasis, d. h. noch unterhalb der ersten Spreitenverbreiterung. Die Schnitte gelangten nach halbstündiger Wässerung in die Untersuchungsflüssigkeit. Die bei plasmometrischen Untersuchungen übliche Methode der Kontrolle der Versuchsschnitte (Entnahme aus dem Vorratsgefäß, Messung auf dem Objektträger unter dem Deckglas, Rückübertragung ins Vorratsgefäß) konnte hier aus zweierlei Gründen nicht angewendet

werden: 1. Das Auflegen des Deckglases verursachte selbst trotz größter Vorsicht regelmäßig eine geringe Erschütterung, die in vielen Fällen zu einer charakteristischen Reizreaktion der Protoplasten führte: spontane Ausdehnung, zum Teil bis zu vollständiger Deplasmolyse in etwa 30 min, und anschließend erneute Kontraktion ungefähr auf den Ausgangswert (hierüber wird a. a. O. zu berichten sein). 2. Auch bei großer Übung im Aufsuchen der Zellen und Ausmessen der Protoplasten mußten die Schnitte wenigstens 3 min unter dem Deckglas verbleiben. Diese Zeit genügte (insbesondere bei Temperaturen oberhalb 25° C), um eine Konzentrierung der Versuchslösung und damit eine *osmotische* Kontraktion der Protoplasten zu bewirken. Um diese Fehler auszuschalten, haben wir die Schnitte unter dem gleichen Deckglas belassen; durch seitliche Zu- und Abführung mittels feiner Glaskapillaren wurde jedoch ein beständiger Strom frischer Lösung am Schnitt vorbeigeführt, und zwar in der Minute 0,10—0,15 ml. Wir arbeiteten beständig mit 2 Mikroskopen und 2 Durchströmungsapparaten, damit jeweils 1 Versuchs- und 1 Kontrollschnitt gleichzeitig beobachtet werden konnte. Zeit: Sommer und Herbst 1952.

b) *Rhoeo* 2n und 4n (Gewächshaus, 18—24° C). Epidermiszellen der Blattunterseite über der Mittelrippe, aus dem zweiten Blattviertel unterhalb der Blattspitze. 12—14stündige Wässerung. Um Zeit und Lösungen zu sparen, befanden sich die Schnitte nicht in der Durchströmungsapparatur, sondern auf kleinen Objektträgern, wo sie mit einer aufgekitteten Glaskapillare vorsichtig festgeklemmt waren. Die Objektträger waren in einem Flüssigkeitsvolumen von 7—10 ml untergetaucht, in Glaswannen mit übergreifendem Deckel. Zur Messung wurde der Deckel abgehoben, dann das Gefäß auf den Objekttisch gebracht und sofort wieder mit einer Pappscheibe verschlossen, die auf eine Wasserimmersion im passenden Abstande aufgeschoben war. Mit dieser Methode konnte eine hinreichende Konstanz des osmotischen Wertes der Versuchslösungen gesichert werden. Wenn wir die Versuchslösung nach 5 Std erneuerten, waren hierbei keinerlei osmotische Volumänderungen der Protoplaste zu beobachten. Zeit: Herbst 1952 bis Frühjahr 1953.

Versuchsflüssigkeiten. 1. Doppelt destilliertes (davon 1mal über Quarz) Wasser, p_H 5,5—5,7. 2. Rohrzucker, käuflich; Korrektur der osmotischen Werte nach URSPRUNG bzw. BRAUNER. 3. Natriumazid, Merck, ohne Angabe des Reinheitsgrades. 4. α-Dinitrophenol, Riedel de Haen, ohne Angabe des Reinheitsgrades. 5. Natriumarsenit, rein, Merck. 6. Kaliumcyanid p. a., Merck. 7. Natriummolybdat, p. a. Merck. 8. Glucose-1-phosphat, hergestellt nach der Vorschrift von PAECH und SIMONIS (1952). 9. Adenosintriphosphorsäure, Natriumsalz, Schuchardt.

10. β-Indolylessigsäure, Kaliumsalz, 85%, Bayer. 11. Pufferlösungen: Phosphatpuffer nach SÖRENSEN, p_H 5,5, 6,5, 7,5 und 7,7.

Bei den Kombinationslösungen von 3.—11. mit Rohrzucker wurde die osmotische Wirkung der Zusätze vernachlässigt bis zu einer Konzentration von 10^{-4} mol. Bei 10^{-3} mol und höher wurde jeweils die Molarität des zugesetzten Stoffes von der Molarität des Rohrzuckers bei der Einwaage abgezogen: bei Glukose-1-Phosphat und den Phosphatpuffern wurde ferner in einigen Versuchsreihen die Dissoziation näherungsweise berücksichtigt durch Multiplikation mit dem Faktor 1,7.

Messung der Protoplastenvolumina nach der plasmometrischen Methode (HÖFLER 1918).

Behandlung der Meßergebnisse. Die mitgeteilten Daten stellen Mittelwerte aus mindestens 10, meistens 20, in besonderen Fällen auch bis zu 160 Einzelzellen dar, wobei von jedem Schnitt nur 10—15 Zellen ausgemessen wurden. Jeder Versuch wurde wenigstens 2mal, häufig bis zu 8mal wiederholt. Die Werte der Zellen eines Schnittes stimmten außerordentlich gut überein. Bei verschiedenen Schnitten wurde in der Regel gleichsinniges Verhalten festgestellt (Ausnahme bei *Taraxacum*; hier zeigten häufig die Zellen des einen Schnittes in reinem Rohrzucker Kontraktion, die Zellen eines benachbarten Schnittes aber Expansion). Gleichwohl traten quantitative Differenzen, z.B. im anfänglichen Plasmolysegrad, auf. Um die Ergebnisse trotzdem in graphischen Darstellungen zusammenfassen zu können, haben wir die Plasmolysegradänderungen in Prozenten des anfänglichen Plasmolysegrades eingetragen. — Die mittleren Fehler betrugen höchstens ± 4%, in einigen sehr ungünstigen Fällen nicht mehr als ± 10% des Mittelwertes.

C. Versuchsergebnisse.

1. Veränderungen des Plasmolysegrades in Rohrzuckerlösungen von gleichbleibender Konzentration.

a) Taraxacum. Wenn aus der hypertonischen Lösung kein Rohrzucker permeiert, und wenn keinerlei Stoffumsetzungen stattfinden, die zu Anatonose oder Katatonose führen, so muß der Plasmolysegrad während der Versuchsdauer konstant bleiben. Dieses Verhalten konnte nur in 2 von 44 Versuchsserien beobachtet werden. In allen anderen Fällen traten entweder gleichmäßige Kontraktionen oder aber Ausdehnungen der Protoplaste ein, wobei die stündliche Plasmolysegradänderung ΔG_h zwischen —0,010 und +0,049 lag (Einheiten des Plasmolysegrades) (Abb. 1). Diese Änderungen waren in gewissem Maße temperaturabhängig: bei Versuchstemperaturen zwischen 19 und 25° C waren sie nur geringfügig (—0,010 bis +0,006), bei Temperaturen von 26—32° C

wurden ausschließlich sehr starke Ausdehnungen gemessen: ΔG_h zwischen +0,012 und 0,049. Es besteht indessen keine strenge Proportionalität, weil die thermische Vorgeschichte eine gewisse Modifizierung bewirkt, und zwar in dem Sinne, daß nach kühlen Nächten häufiger Kontraktionen auftraten, während warme Nächte die Ausdehnung der Protoplasten förderte. Eindeutig ist lediglich der Befund, daß oberhalb 25° C Versuchstemperatur regelmäßig *starke* Ausdehnung erfolgte, während unterhalb 25° C die ΔG_h-Werte geringer und in nicht voraussagbarer Weise positiv oder negativ ausfielen.

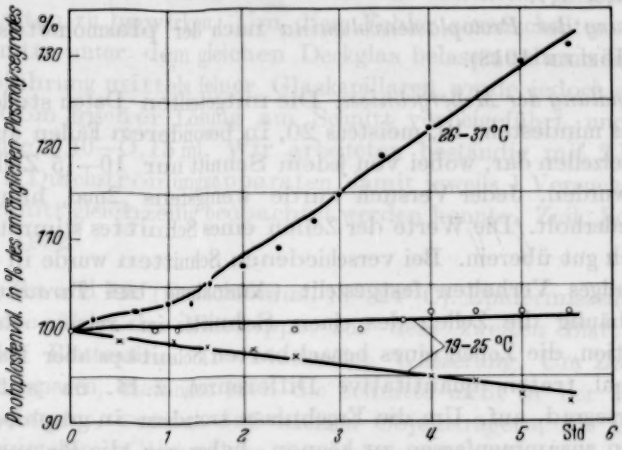


Abb. 1. *Taraxacum officinale.* Veränderung des Protoplastenvolumens in reiner Rohrzuckerlösung: Kontraktion oder geringe Expansion bei 19—25° C, starke Expansion oberhalb 25° C.

b) Rhoeo. Hier lagen die Verhältnisse insofern einfacher, als in allen Fällen zunächst eine geringfügige Kontraktion stattfand, die alsbald von einer gleichmäßigen Volumvergrößerung gefolgt war. In den aufsteigenden Kurvenästen (Abb. 2) waren die ΔG_h-Werte im Durchschnitt 0,004 (2n) bzw. 0,006 (4n) (Mittelwerte aus je 310 Zellen). Es konnte eine Beziehung zwischen dem Ausmaß der Ausdehnung und dem Ausgangswert des Plasmolysegrades aufgestellt werden: je niedriger G zu Versuchsbeginn war (je stärker also die Plasmolyse), um so geringer war die Expansion; bei höherem Ausgangsgrad nahmen die Protoplastenvolumina schneller zu, außerdem war die anfängliche Kontraktion hier kaum zu bemerken.

Wie an Hand der nachstehenden Versuche mit Stoffwechselgiften und -anregern zu belegen ist, beruht die Protoplasten*ausdehnung* bei beiden Objekten *weder auf Rohrzuckerpermeation noch auf Katatonose*; sie ist vielmehr die Folge einer *nichtosmotischen* Wasseraufnahme. Es ist daher nicht möglich, die *geringere* Volumzunahme, wie sie an *Rhoeo* bei niedrigen Plasmolysegraden stattfindet, als *Permeabilitätsherabsetzung* für Rohrzucker infolge anhaltender bzw. starker Plasmolyse auf-

zufassen (im Sinne SCHMIDTs 1936). Die Verhältnisse lassen sich vielmehr wie folgt darstellen: Bereits in der nichtplasmolysierten Zelle befindet sich neben dem osmotisch aufgenommenen Wasser ein gewisser zusätzlicher Wasserbetrag, der unter Energieaufwand aufgenommen *und festgehalten* wird (vgl. BOGEN und PRELL 1953). Ist der von der Zelle gelieferte bzw. zu liefernde Energiebetrag gering, so ist auch dieser zusätz-

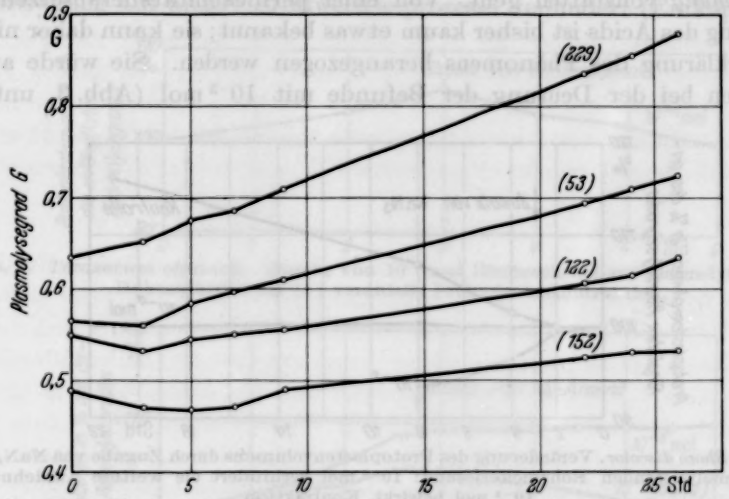


Abb. 2. *Rhoeo discolor.* Zunahme des Protoplastenvolumens in reiner Rohrzuckerlösung bei verschiedenen Versuchsserien (R 53, 122, 152 und 229): Die Ausdehnung erfolgt um so schneller, je höher der anfängliche Plasmolysegrad G war.

liche Wasserbetrag gering, und die anschließende Plasmolyse führt zu niedrigen G-Werten. Im weiteren Ablauf des Versuchs kann dann eben wegen der geringen Intensität der energieliefernden Prozesse auch die nachfolgende nichtosmotische Wasseraufnahme nur gering sein. Niedrige Plasmolysegrade und geringe nichtosmotische Wasseraufnahme haben also eine *gemeinsame* Ursache.

Ganz entsprechend dürfen auch die bei *Taraxacum* häufigen *Kontraktionen* nicht als Folge einer Exosmose gelöster Substanzen angesehen werden: gegenüber den Protoplasten mit Expansion müßte hier die Exosmose *erhöht*, die Rohrzuckerpermeabilität aber *herab*gesetzt sein. Wir vermuten stattdessen, daß in solchen Fällen durch die Manipulationen bei der Anfertigung der Schnitte die energieliefernden Prozesse so beeinträchtigt werden, daß das bis dahin nichtosmotisch festgehaltene Wasser allmählich die Zelle verläßt.

2. *Veränderung des Protoplastenvolumens durch Natriumazid.*

a) Rhoeo. Wir möchten zunächst die Versuchsergebnisse an *Rhoeo* anführen. Ersetzt man die plasmolysierende Rohrzuckerlösung durch eine isosmotische Kombinationslösung Rohrzucker $+10^{-4}$ mol NaN_3,

so wird jegliche Volumzunahme der Protoplaste verhindert, während sie in den Kontrollschnitten unverändert anhält (Abb. 3; je 2 Schnitte mit insgesamt 60 Zellen; 4fache Wiederholung ergab genau das gleiche). Da das Azid die Cytochromoxydase hemmt, dürfen wir — bei allem Vorbehalt hinsichtlich der Spezifität der „Teilgifte" — annehmen, daß die Wasseraufnahme der plasmolysierten Protoplaste *unter Mitwirkung der Atmung* vonstatten geht. Von einer permeabilitätsherabsetzenden Wirkung des Acids ist bisher kaum etwas bekannt; sie kann daher nicht zur Erklärung des Phänomens herangezogen werden. Sie würde auch versagen bei der Deutung der Befunde mit 10^{-3} mol (Abb. 3, untere

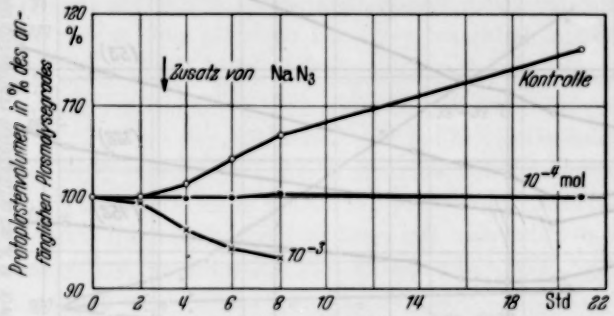


Abb. 3. *Rhoeo discolor.* Veränderung des Protoplastenvolumens durch Zugabe von NaN_3 (↓) zur plasmolysierenden Rohrzuckerlösung: 10^{-4} mol verhindert die weitere Ausdehnung, 10^{-3} mol bewirkt Kontraktion.

Kurve): In dieser Konzentration bewirkt das Azid gegenüber den sich gleichmäßig ausdehnenden Kontrollzellen eine Protoplasten*kontraktion* (ebenfalls durch 4fache Wiederholung gesichert). Wollte man dieses Verhalten unter dem Aspekt der Permeabilität verstehen, so würde man eine Erhöhung der Exosmose von Vakuolenstoffen bei gleichzeitiger Herabsetzung der Permeabilität für Rohrzucker annehmen müssen. Demgegenüber erscheint es plausibel, daß die höhere Giftkonzentration die Atmung hemmt, wodurch allmählich alles bis dahin nichtosmotisch festgehaltene Wasser die Vakuole wieder verlassen muß.

Azid in 10^{-3} mol schädigt die Zelle stark und läßt sie nach 8stündiger Plasmolyse absterben.

b) Taraxacum. 10^{-3} mol Azid führt auch hier zu einer kräftigen *Kontraktion* der Protoplasten, wobei es gleichgültig ist, ob sie sich vordem ausgedehnt oder kontrahiert hatten. 10^{-6} mol ist in beiden Fällen wirkungslos.

3. Veränderung des Protoplastenvolumens durch Dinitrophenol.

a) *Rhoeo.* Dinitrophenol hat genau den gleichen Effekt wie Azid, nur sind die wirksamen Konzentrationen niedriger: in 10^{-5} mol Stillstand

der Volumänderung, in 10^{-4} mol Protoplastenkontraktion (4 bzw. 8 Versuche mit insgesamt 120 Zellen).

b) Bei *Taraxacum* ist 10^{-6} mol wirkungslos, während 10^{-4} mol Zellen mit Volumzunahme zu starker Kontraktion veranlaßt (Abb. 4).

Da Dinitriphenol die Atmung als solche ungehindert ablaufen läßt (in niedrigen Konzentrationen sogar stimuliert) und nur die Energieübertragung auf andere Stoffwechselprozesse verhindert (Entkoppelung

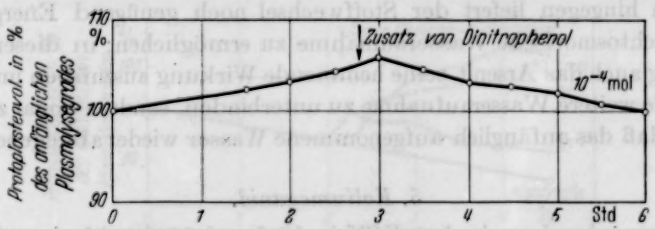


Abb. 4. *Taraxacum officinale.* Zugabe von 10^{-4} mol Dinitrophenol zur plasmolysierenden Rohrzuckerlösung (↓) veranlaßt Protoplastenkontraktion.

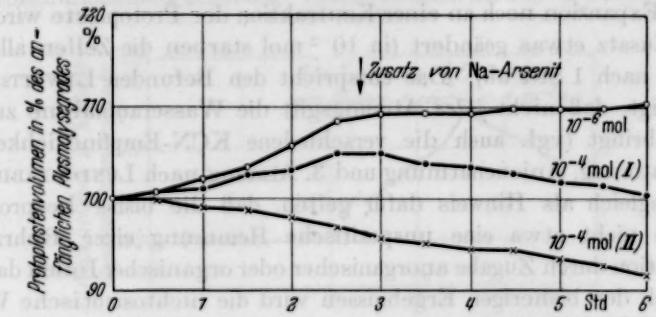


Abb. 5. *Taraxacum officinale.* Zugabe von $NaAsO_2$ zur plasmolysierenden Rohrzuckerlösung (↓): 10^{-6} mol verhindert die weitere Ausdehnung der Protoplasten, 10^{-4} mol führt bei Protoplasten mit anfänglicher Ausdehnung zu Kontraktion (I), ist aber bei Protoplasten mit anfänglicher Kontraktion wirkungslos (II).

der Phosphorylierungen), kann man aus diesen Befunden schließen, daß die Atmung nicht unmittelbar, sondern nur auf dem Umwege des allgemeinen Energiestoffwechsels an der nichtosmotischen Wasseraufnahme teilnimmt. Wir haben daher vorerst von Atmungsmessungen absehen können.

Analog dürfen die (nur an *Taraxacum* durchgeführten) Versuche mit

4. Natriumarsenit

verstanden werden. Na-Arsenit, das —SH-haltige Enzyme blockiert, stoppt in 10^{-6} mol die Wasseraufnahme der sich ausdehnenden Protoplaste, ohne indessen eine Kontraktion hervorzurufen (Abb. 5). Interessant ist die Wirkung der stärkeren Konzentration 10^{-4} mol. Dehnten sich die Protoplaste in reinen Rohrzucker aus, so tritt hier alsbald eine

starke Kontraktion ein (Abb. 5, I). Wenn sich dagegen die Protoplaste bereits im reinen Rohrzucker kontrahierten, so hat das Arsenit keinen Effekt mehr (Abb. 5, II), die Kontraktion läuft unverändert weiter. Das darf wohl so interpretiert werden, daß die Protoplastenkontraktion im reinen Rohrzucker auf einer der Arsenitwirkung analogen Stoffwechselhemmung beruht; ist diese Hemmung maximal, so kann auch das Arsenit nichts mehr ausrichten. Bei sich ausdehnenden Protoplasten hingegen liefert der Stoffwechsel noch genügend Energie, um eine nichtosmotische Wasseraufnahme zu ermöglichen; in diesem Falle vermag auch das Arsenit seine hemmende Wirkung auszuüben und nicht nur jede weitere Wasseraufnahme zu unterbinden, sondern sogar zu erreichen, daß das anfänglich aufgenommene Wasser wieder abgegeben wird.

5. Kaliumcyanid.

Überraschenderweise hat KCN in 10^{-3} und 10^{-2} mol keinen Einfluß auf die Wasseraufnahme von *Taraxacum*zellen: weder an einer anfänglichen Expansion noch an einer Kontraktion der Protoplaste wird durch KCN-Zusatz etwas geändert (in 10^{-2} mol starben die Zellen allerdings bereits nach 1 Std ab). Das entspricht den Befunden LEVITTS (1948) und zeigt, daß nicht *jedes* Atmungsgift die Wasseraufnahme zum Erliegen bringt (vgl. auch die verschiedene KCN-Empfindlichkeit von Grundatmung, Anionenatmung und 3. Atmung nach LUNDEGÅRDH). Es mag zugleich als Hinweis dafür gelten, daß die bisher besprochenen Effekte nicht etwa eine unspezifische Hemmung einer Rohrzuckerpermeation durch Zugabe anorganischer oder organischer Ionen darstellt.

Nach den bisherigen Ergebnissen wird die nichtosmotische Wasseraufnahme physiologisch, und zwar durch Stoffwechselprozesse gesteuert und demgemäß durch spezifische Stoffwechselgifte verhindert. Um diese Deutung zu bekräftigen, haben wir versucht, die Wasseraufnahme durch stoffwechsel*anregende* Agentien zu *erhöhen*. Als solche verwendeten wir Glucose-1-phosphat, Adenosintriphosphat und β-Indolylessigsäure.

6. Glucose-1-phosphat.

a) Taraxacum. Glucose-1-phosphat wurde in ungepufferter Lösung angewendet, und zwar in den Konzentrationen 10^{-3}, 10^{-2} und 10^{-1} mol.

Um einen möglichst großen Effekt zu erzielen, haben wir mit solchen Schnitten gearbeitet, deren Protoplasten sich in reinem Rohrzucker langsam kontrahieren. In Abb. 6 sind die Ergebnisse dreier aufeinanderfolgender Versuche dargestellt, wobei die einzelnen Kurven jeweils so umgerechnet wurden, daß sie in dem Punkte der Zugabe von Glucosephosphat mit der Kontrollkurve zusammenfielen.

10^{-3} mol ruft eine sofortige, wenn auch geringe Vergrößerung des Protoplastenvolumens hervor (= Erhöhung der nichtosmotischen Was-

seraufnahme). Diese ist jedoch bereits nach 30 min beendet; von diesem Zeitpunkt an läuft die Versuchskurve der Kontrollkurve wieder parallel, nur um etwa 2% nach oben verschoben. In 10^{-2} mol ist der gleiche Effekt stärker (etwa 7%), tritt aber erst verzögert ein, und in 10^{-1} mol schließlich wird eine — nochmals verzögerte — Volumzunahme um etwa 11% erzielt. Sie klingt erst nach 4 Std ab. Die Zellen bleiben über viele Stunden intakt.

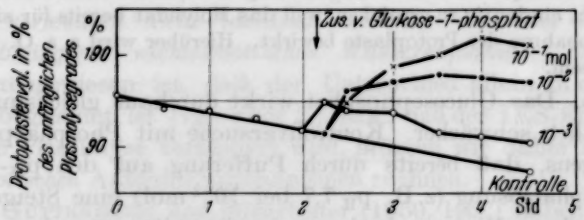


Abb. 6. *Taraxacum officinale.* Zugabe von Glucose-1-phosphat in verschiedenen Konzentrationen zur plasmolysierenden Rohrzuckerlösung (↓) erhöht das Protoplastenvolumen um einen konzentrationsabhängigen Betrag. Danach verlaufen Kontroll- und Versuchskurven wieder parallel.

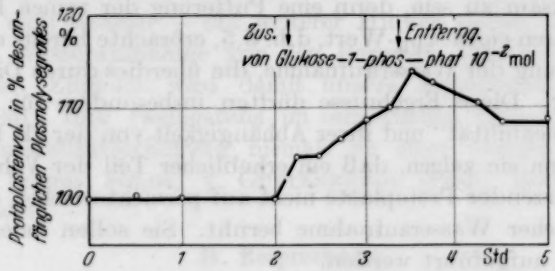


Abb. 7. *Taraxacum officinale.* Zugabe von Glucose-1-phosphat (1. Pfeil) führt zu Protoplastenausdehnung, Entfernung des Phosphats durch Rückübertragung der Schnitte in reine Rohrzuckerlösung (2. Pfeil) zu Kontraktion.

Die ansehnliche Steigerung der Wasseraufnahme durch Anregung des Energiestoffwechsels (sie war in weiteren Versuchen zum Teil noch wesentlich stärker und erreichte Werte bis zu 36%) ist nicht etwa ein vor übergehender Effekt, der nach kurzer Zeit wieder völlig verschwindet. Sie bleibt vielmehr über viele Stunden erhalten, wenn sich die Schnitte in der glucosephosphathaltigen Lösung befinden. Erst wenn man das Glucosephosphat durch Rückübertragung der Schnitte in die reine Rohrzuckerlösung entfernt, wird das zusätzlich aufgenommene Wasser wieder abgegeben (Abb. 7).

Der zuletzt genannte Effekt wird allerdings etwas überdeckt, indem die Zellen auf die Entfernung des Glucosephosphats anfänglich mit einer Protoplasten*ausdehnung* reagieren. Dieser vorübergehende Anstieg ist indessen *osmotisch* bedingt: bei der Berechnung der osmotischen Wirkung des Zusatzes haben wir bewußt die Dissoziation des Natriumsalzes nicht berücksichtigt. Daher hat die glucosephosphathaltige Lösung einen etwas höheren osmotischen Wert; beim Ersetzen durch

die schwächere reine Rohrzuckerlösung findet somit zunächst ein osmotischer Ausgleich in Form einer vorübergehenden osmotischen Wasseraufnahme statt. Erst wenn dieser erreicht ist, wird die Abgabe des „nichtosmotischen" Wassers sichtbar.

Berücksichtigt man diese osmotischen Differenzen, so ist der Effekt des Glucosephosphats in unseren Versuchen zu gering ausgefallen, da er sich nur gegen den osmotischen (Kontraktions-) Effekt, wie er beim Lösungswechsel zunächst entsteht, durchsetzen kann. In gleicher Weise dürfte die Verzögerung zu erklären sein.

Eine Blockierung der energetischen Nutzung des Glucosephosphats durch Vergiftung der Phosphatasen mit Natriummolybdat (nach ROTHSTEIN und MEIER 1949) war nicht eindeutig zu erreichen, weil das Molybdat bereits für sich eine geringe Volumzunahme der Protoplaste bewirkt. Hierüber wird a. a. O. ausführlich zu berichten sein.

b) Rhoeo. Das Glucosephosphat wirkt durchaus gleichsinnig, wenn auch wesentlich schwächer. Kontrollversuche mit Phosphatpuffern ergaben übrigens, daß bereits durch Pufferung auf den p_H-Wert der Glucosephosphatlösung (z. B. p_H 7,7 bei 10^{-2} mol) eine Steigerung der nichtosmotischen Wasseraufnahme eintritt, die von dem Glucosephosphateffekt abgezogen werden muß. Dabei scheinen nicht so sehr die Wasserstoffionen als vielmehr die Phosphationen der Puffersubstanzen wirksam zu sein, denn eine Pufferung der reinen Rohrzuckerlösung auf ihren *eigenen* p_H-Wert, d. h. 5,5, erbrachte bereits eine ansehnliche Steigerung der Wasseraufnahme, die überdies durch Dinitrophenol hemmbar ist. Diese Ergebnisse dürften insbesondere für Fragen der „Wasserpermeabilität" und ihrer Abhängigkeit von der cH bedeutungsvoll sein, denn sie zeigen, daß ein erheblicher Teil der Volumzunahme deplasmolysierender Protoplaste nicht auf permeatorischer, sondern auf nichtosmotischer Wasseraufnahme beruht. Sie sollen indessen gleichfalls a. a. O. aufgeführt werden.

7. Adenosintriphosphat.

ATP, der „Energievorrat" der Zelle, war bei *Rhoeo* in den Konzentrationen $2 \cdot 10^{-6}$ und $5 \cdot 10^{-5}$ völlig wirkungslos, in Übereinstimmung mit den Resultaten anderer Autoren, nach denen ATP aus der Lösung nicht, oder nur in äußerst geringem Maße aufgenommen wird (vgl. z. B. auch GOLDACRE 1952, der ATP in Amöben injizieren mußte, um einen Effekt zu erzielen).

8. β-Indolylessigsäure.

IES (Kaliumsalz, 10^{-9}, 10^{-7} und 10^{-5} g/l in ungepufferter Lösung), hat gleichfalls keinen Einfluß auf die Veränderung des Protoplastenvolumens, weder bei *Rhoeo* noch bei *Taraxacum*. Zwar liegen bei *Rhoeo* die Versuchskurven in der Regel unter den Kontrollkurven, doch sind die Differenzen viel zu gering, als daß sie statistisch gesichert werden könnten. Dieser eindeutig negative Befund ist in zweifacher Hinsicht besonders aufschlußreich:

1. Nach neueren Untersuchungen (HACKETT und THIMANN 1952, ältere Literatur vgl. BOGEN 1951) ruft IES in denjenigen Konzentrationen, die das Streckungswachstum fördern, eine sehr starke Wasseraufnahme hervor — allerdings erst am 2. Tage ab —, der eine Atmungssteigerung streng parallel geht. Sie wird durch die Stoffwechselgifte, die auch wir verwendeten, sowie durch CO proportional der Atmungshemmung herabgesetzt und von den Autoren als nichtosmotisch bezeichnet (Versuche an Kartoffel- und Artischockengewebe und an *Avena*-Koleoptilen). *Sie ist vermutlich nicht identisch mit der von uns beschriebenen, IES-unabhängigen nichtosmotischen Wasseraufnahme.* Solange nicht sicher nachgewiesen ist, daß der Unterschied allein in der Wahl der Objekte begründet ist (vgl. aber 2.), bzw. daß der IES-Effekt lediglich durch die Plasmolyse verhindert wird, müssen wir daher mit *mehreren nichtosmotischen* Aufnahmemechanismen rechnen.

2. v. GUTTENBERG und Mitarbeiter (1950, 1952) haben an den gleichen *Rhoeo*-Epidermiszellen gefunden, daß IES in 10^{-9} und 10^{-7} zu einer Erhöhung, in 10^{-5} zu einer Herabsetzung der Deplasmolysegeschwindigkeit bzw. der „*Permeabilität*" führt. Diese Wirkung wird in unseren Versuchen *nicht sichtbar* — ein weiterer Hinweis dafür, daß die nichtosmotische Wasseraufnahme von den Permeabilitätsverhältnissen *unabhängig* ist. Zugleich wird damit unsere Argumentation bestätigt (BOGEN 1951), daß (wenigstens im osmotischen Gleichgewicht) eine bloße Permeabilitätserhöhung niemals zu einer vermehrten Wasseraufnahme führen könne, v. GUTTENBERGs (1952) Einwand jedoch widerlegt wird.

D. Besprechung.

Unsere Versuchsergebnisse lassen sich vorläufig zu folgendem Bild zusammenfassen:

An plasmolysierten Zellen, bei denen die osmotischen Wasserbewegungen („Saugkräfte") infolge Wassersättigung und wegen des fehlenden Wanddruckes ausgeschaltet sind, lassen sich nichtosmotische Saugkräfte bzw. Aufnahmemechanismen nachweisen. Sie führen zu einer beständigen und gleichmäßigen Wasseraufnahme und damit Volumzunahme der Protoplasten. Diese kann durch einige Atmungs- und Stoffwechselgifte verhindert, durch Glucose-1-phosphat gesteigert werden, während KCN als Atmungsgift und IES als Atmungsstimulans unwirksam sind. Damit ist zunächst sichergestellt, daß die hier beobachtete nichtosmotische Wasseraufnahme nicht unmittelbar mit der Atmung gekoppelt ist, sondern indirekt mit dem allgemeinen und weitverzweigten Energiestoffwechsel.

Da es unwahrscheinlich ist, daß diese Mechanismen der Wasseraufnahme erst mit dem Plasmolysebeginn anlaufen, dürfen wir annehmen,

daß jede Zelle bereits im unplasmolysierten Zustande neben dem osmotisch gebundenen Wasser noch eine zusätzliche, nichtosmotisch festgehaltene Wassermenge besitzt. Diese Wassermenge kann die Zelle wieder verlassen, wenn die energieliefernden Stoffwechselprozesse völlig blockiert werden, sei es durch die Manipulationen der Schnittanfertigung und den Eingriff der Plasmolyse (z. B. *Taraxacum* bei Temperaturen unterhalb 25° C), sei es durch höhere Konzentration der Stoffwechselgifte (z. B. Natriumarsenit): in beiden Fällen resultiert eine Protoplasten*kontraktion*.

Diese nichtosmotische Wasserführung der Zelle stellt die Zuverlässigkeit der plasmolytischen Bestimmung osmotischer Werte — die schon mehrfach angezweifelt wurde, vgl. z. B. CURRIER (1944), BOGEN und PRELL (1953) — erheblich in Frage, denn sie muß zu verfälschten (zu hohen) Werten führen. Des weiteren wird sie auch bei plasmolytischen *Permeabilitäts*bestimmungen falsche Permeationskonstanten liefern.

Die Existenz nichtosmotischer Potentiale bzw. Saugkräfte ist seit mehreren Jahren bekannt (REINDERS 1942, COMMONER, FOGEL und MULLER 1943, KELLY 1946, BRAUNER und HASMAN 1947, 1949, 1952, LEVITT 1948, HACKETT und THIMANN 1950, 1952 usw.). Es scheint indessen, als ob hier recht verschiedene Phänomene vorlägen, die nicht unbedingt parallelisierbar sind. Zum mindesten besteht ein Unterschied hinsichtlich der KCN-Wirkung: HACKETT und THIMANN z. B. fanden eine starke Hemmung der Atmung und der Wasseraufnahme, während bei LEVITT (1948) und in unseren Versuchen KCN keinen Einfluß hatte. Weiterhin muß zwischen der IES-geförderten Saugkraft bei (unplasmolysiertem) Kartoffel- und Artischockengewebe (HACKETT und THIMANN 1952, BRAUNER und HASMAN 1952) und der von uns beobachteten IES-unabhängigen Wasseraufnahme getrennt werden.

Nach BRAUNER und HASMANN (1952) erstreckt sich die IES-Wirkung entscheidend nur auf eine Verringerung des Wanddruckes; beide Autoren betonen daher mit Recht, daß „diese Schlußfolgerung nichts über die Mitbeteiligung eines *auxinunabhängigen* metaosmotischen Potentials an den gemessenen Saugkräften präjudiziert" (S. 322). Gerade diese Komponente ist es aber, die wir mit unseren *Versuchen an entspannten Zellen* erfassen konnten.

Aus diesen und anderen Gründen ist auch die Frage nach den Wirkungsmechanismen der nichtosmotischen Saugkräfte noch durchaus offen. Nach LUNDEGÅRDH (1950) kann ein Saugpotential im Gefolge der sog. Anionenatmung entstehen, entweder, indem sich die Wasserdipole des gleichen Transportmechanismus (der „Elektronenleiter") bedienen wie die Anionen — das würde einen nichtosmotischen Effekt darstellen —, oder osmotisch, wenn nämlich die nichtosmotische Aufnahme von Anionen der Vakuole einen höheren osmotischen Wert gibt. Diese Erklärungsmöglichkeit versagt jedoch, weil die Anionenatmung im Gegensatz zu unserer nichtosmotischen Wasseraufnahme KCN-

empfindlich ist. Man müßte hierzu schon die „Grundatmung" oder die „3. Atmung" heranziehen, die beide durch KCN nicht gehemmt werden sollen. Aber die unmittelbare Bindung an den Ablauf der Atmung wird angesichts der Blockierung durch das „Koppelungsgift" Dinitrophenol unwahrscheinlich.

Eine zweite Deutungsmöglichkeit ist durch die neuen Untersuchungen GOLDACRES (1952) gegeben. Hiernach kann eine nichtosmotische Stoffakkumulation durch die — energiebedürftige — Faltungsarbeit von Trägerproteinen erreicht werden, welche zugleich die Plasmaströmung bewirkt. Somit würde die nichtosmotische Wasseraufnahme nicht direkt an die Atmung geknüpft sein, sondern nur mittelbar zum allgemeinen Energiestoffwechsel in Beziehung stehen. Diese Annahme wird unter anderem gestützt durch die Befunde von ALLEN und PRICE (1950). Sie hatten gezeigt, daß durch KCN zwar die Atmung (respiratorische O_2-Aufnahme), nicht aber die Plasmaströmung herabgesetzt wird, während umgekehrt Dinitrophenol die Plasmaströmung stoppt, die Atmung jedoch stimuliert. Genau so verhält es sich bei der hier gemessenen nichtosmotischen Wasseraufnahme; die „carrier"-Theorie dürfte daher deren Mechanismen am besten entsprechen.

Die Wasserführung der Zelle stellt sich nach diesen Überlegungen als ein vorerst schwer analysierbarer Komplex sehr verschiedenartiger Vorgänge heraus. Neben die osmotische Wasseraufnahme (Saugkraft im klassischen Sinne) tritt eine elektroosmotische Komponente (BRAUNER und HASMAN 1947, STUDENER 1948), die Anionenatmung (LUNDEGÅRDH 1950), eine direkt atmungs- und IES-empfindliche (HACKETT und THIMANN 1950, 1952) und schließlich eine IES- und KCN-unempfindliche Wasseraufnahme.

Es hat den Anschein, als ob wir mit der hier verwendeten Abänderung der plasmolytischen Methode diese verschiedenen Phänomene besser als bisher trennen können. Wir hoffen, daß es möglich sein wird, mit den Ergebnissen der inzwischen fortgesetzten Untersuchungen eine umfassendere Definition der „Hydratur" der Pflanzenzelle unter physiologischen Aspekten zu geben. Sie sollen, zusammen mit den hier nur kurz mitgeteilten Befunden, zu einem späteren Zeitpunkt ausführlich veröffentlicht werden.

Im Hinblick auf das Problem der Permeabilität — als eines Teilgebietes der allgemeinen Stoffaufnahme — gilt das bereits auf S. 152 gesagte: Die Wirkung meta- und nichtosmotischer Wasseraufnahmemechanismen kann sich in einer erheblichen Verfälschung plasmometrisch ermittelter Permeationskonstanten äußern (vgl. hierzu BOGEN und PRELL 1953). Ein großer Teil solcher Permeationskonstanten spiegelt also nicht die reinen Permeabilitätseigenschaften wieder, sondern stellt die Summe aus permeatorischer und nichtosmotischer Stoffaufnahme dar.

Das betrifft zunächst die Permeationskonstanten des Wassers und deren Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration (und die daraus abgeleitete Lage des IEP), um so mehr, als die nichtosmotischen Effekte in besonderem Maße durch die cH beeinflußt werden. Das gleiche muß aber auch bei den Permeationskonstanten für gelöste Stoffe und den sog. „Permeabilitätsreihen" berücksichtigt werden. Diese mögen wohl „objektspezifisch" sein, können aber nicht mehr unbesehen als Ausdruck „spezifischer" *Permeations*mechanismen aufgefaßt werden. Unter diesem Gesichtspunkt muß ein großer Teil der „Abweichungen" von der Ultrafiltertheorie RUHLANDS beurteilt werden, die zu einer unbegründeten negativen Stellungnahme und zur Aufstellung sog. Permeabilitätstypen geführt haben (RUHLAND, ULLRICH und ENDO 1938, BOGEN 1950).

Zusammenfassung.

1. Blattepidermiszellen von *Taraxacum officinale* und *Rhoeo discolor* wurden einer langdauernden Plasmolyse mit Rohrzuckerlösungen gleichbleibender Konzentration unterworfen und fortlaufend auf ihren Plasmolysegrad vermessen. Der Plasmolysegrad bleibt nicht konstant: bei *Rhoeo* dehnen sich die Protoplaste gleichmäßig aus, während die *Taraxacum*-Protoplaste bei Temperaturen oberhalb 25° C starke Expansion, unterhalb 25° C teils Expansion, teils Kontraktion zeigen.

2. Es wurde versucht, diese Volumänderungen durch Zusatz verschiedener Stoffe — Stoffwechselgifte und Stoffwechselanreger — experimentell zu beeinflussen.

a) Natriumazid 10^{-4} mol verhindert die Protoplastenausdehnung, 10^{-3} mol führt sogar zur Kontraktion, während 10^{-6} wirkungslos ist.

b) Dinitriphenol hat den gleichen Effekt, nur sind die wirksamen Konzentrationen jeweils um eine Zehnerpotenz niedriger.

c) Natriumarsenit (nur an *Taraxacum* geprüft) stoppt in 10^{-6} mol die Ausdehnung; 10^{-4} mol bewirkt Kontraktion, soweit sich die Protoplaste vorher ausdehnten, ist aber wirkungslos, wenn bereits vorher Kontraktionen stattgefunden hatten.

d) KCN beeinflußt in 10^{-3} und 10^{-2} die Volumänderungen nicht.

e) Glucose-1-phosphat (10^{-3} bis 10^{-1} mol) steigert die Volumzunahme, und zwar ungefähr proportional der Konzentration. Diese Wirkung klingt jedoch nach spätestens 4 Std ab; danach sinkt die Volumveränderung wieder auf das ursprüngliche Ausmaß zurück. Entfernung des Glucosephosphates führt zu einer vorübergehenden Volumabnahme.

f) Adenosintriphosphat ($2 \cdot 10^{-6}$ und $5 \cdot 10^{-5}$ mol) und β-Indolylessigsäure (10^{-9} bis 10^{-5} g/l) haben keinen Effekt.

3. In der Besprechung wird darauf hingewiesen, daß die hier beobachtete Volumzunahme der Protoplasten als nichtosmotische Wasser-

aufnahme zu kennzeichnen ist, die ihrerseits nicht unmittelbar mit der Atmung (weil KCN-unempfindlich), wohl aber mit dem allgemeinen Energiestoffwechsel der Zelle gekoppelt ist (weil dinitrophenol-empfindlich). Sie ist von anderweitigen, ebenfalls nichtosmotischen Mechanismen, die aus der Literatur bekannt sind, wegen ihrer Unempfindlichkeit gegen Heteroauxin abzutrennen. Die verschiedenen nichtosmotischen — physiologischen — Aufnahmeprozesse, die an der Zelle ablaufen können, werden zusammen- und der (physikalischen) Wasseraufnahme gegenübergestellt.

4. Die hier beobachtete Wasseraufnahme wird durch die gleichen Agentien im gleichen Sinne beeinflußt wie die Plasmaströmung (Allen und Price). Da nach Goldacre ein sehr enger Zusammenhang zwischen Plasmaströmung und nichtosmotischer Stoffaufnahme besteht, wird vermutet, daß auch die nichtosmotische Wasseraufnahme durch die Vermittlung umfaltbarer Trägerproteine erfolgt („carrier"-Theorie).

5. Auf die Bedeutung der Befunde für Fragen der Permeabilität, besonders der Wasserpermeabilität, wird hingewiesen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für die Unterstützung der Untersuchungen gedankt.

Literatur.

Allen, P. J., and W. H. Price: Amer. J. Bot. **37**, 393 (1950). — Bogen, H. J.: Planta (Berl.) **38**, 65 (1950). — Fortschr. Bot. **13**, 192 (1951). — Bogen, H. J., u. H. Prell: Planta (Berl.) **41** (1953). — Brauner, L., u. M. Hasman: Istanbul Üniv. Fak. Mecmuasi, Ser. B **12**, 210 (1947). — Bull. Fac. Méd. Istanbul **12**, 57 (1949). — Protoplasma (Wien) **41**, 302 (1952). — Commoner, B., S. Fogel and H. W. Müller: Amer. J. Bot. **30**, 23 (1943). — Currier, H. B.: Amer. J. Bot. **31**, 378 (1944). — Goldacre, R. J.: Internat. Rev. Cytol. **1**, 135 (1952). — Guttenberg, H. v., u. A. Beythien: Planta (Berl.) **40**, 36 (1951). — Guttenberg, H. v., u. G. Meinl: Planta (Berl.) **40**, 431 (1951). — Hackett, D. P., and K. V. Thimann: Plant Physiol. **25**, 647 (1950). — Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **38**, 770 (1952). — Höfler, K.: Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 414 (1918). — Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Abt. I **143**, 213 (1934). — Kelly, S. M.: Amer. J. Bot. **33**, 230 (1946). — Lundegårdh, H.: Physiol. Plantarum (Copenh.) **3**, 103 (1950). — Meinl, G., u. H. v. Guttenberg: Planta (Berl.) **41**, 167 (1952). — Paech, K., u. W. Simonis: Übungen zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. Berlin 1952. — Reinders, D. E.: Rec. Trav. bot. néerl. **39**, 1 (1942). — Rothstein, A., and R. Meier: J. gen. a. comp. Physiol. **34**, 97 (1949). — Ruhland, W., u. C. Hoffmann: Planta (Berl.) **1**, 1 (1925). — Ruhland, W., H. Ullrich u. S. Endo: Planta (Berl.) **27**, 650 (1938). — Schmidt, H.: Jb. wiss. Bot. **83**, 470 (1936). — Studener, O.: Planta (Berl.) **35**, 427 (1948). — Vries, H. de: Bot. Z. **1888**, H. 1.

Prof. Dr. H. J. Bogen, Marburg a. d. L.,
Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 42, S. 156—176 (1953).

Aus dem Institut für Meereskunde der Universität Kiel.

WEITERE BEITRÄGE ZUR KENNTNIS DER REMINERALISIERUNG DES PHOSPHORS BEI MEERESALGEN*.

Von

CURT HOFFMANN.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. April 1953.)

I. Einleitung.

In einer früheren Mitteilung war die Frage nach der Remineralisierung des Phosphors bei marinen Benthosalgen aufgegriffen worden (HOFFMANN und REINHARDT 1952). Es ließ sich für *Fucus vesiculosus* und *Ulva Lactuca* zeigen, daß beim Absterben der Zellen ein großer Anteil des organisch gebundenen Phosphors autolytisch als Phosphat abgespalten und an das umgebende Seewasser abgegeben wird. Bei beiden Algen finden sich allerdings gewisse Abweichungen gegenüber den von STEINER (1938a, b) für Süßwasserplankton beobachteten Remineralisierungsvorgängen. So ergibt sich für Fucus, daß hier in den Thallusspitzen bereits erhebliche Mengen freien Phosphates gespeichert werden, die bis zu 70% des Gesamtphosphors betragen können, bei Ulva dagegen wies die Menge des bei der Remineralisation entstehenden Phosphates zusammen mit dem in den Algen verbliebenen Restphosphors ein Defizit auf gegenüber den ursprünglich im Algenthallus vorhandenen Phosphormengen. Eine Erklärung für diese Differenz konnte damals einwandfrei nicht gegeben werden. Es wurde jedoch vermutet, daß bei den Autolysevorgängen beträchtliche Mengen phosphorhaltiger organischer Stoffe an das Seewasser abgegeben wurden, die mit den damals angewandten Bestimmungsmethoden nicht erfaßt werden konnten.

Im folgenden wird diese Frage an *Ulva Lactuca* erneut untersucht, sowie über Versuche berichtet, die sich mit der Remineralisierung und Verteilung des Phosphors im Thallus von Braunalgen befassen.

II. Material und Methodik.

Die zu den Versuchen verwendeten Algen stammten aus der Kieler Förde. Sie wurden nach dem Einsammeln im Aquarium des Instituts in Seewasser, das häufig gewechselt wurde, aufbewahrt. Da die Temperaturen im Durchschnitt etwa 8° betrugen, hielten sich die Algen lange Zeit ausgezeichnet. Entsprechend dem stärkeren Lichtbedürfnis der Grünalgen wurde für Ulva ein helles, nach Norden

* Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. RUHLAND, zum 75. Geburtstag gewidmet.

gelegenes großes Doppelfenster als Aufbewahrungsort gewählt. Die Temperaturen schwankten hier zwischen 8 und 12°.

Die Remineralisationsversuche wurden in der gleichen Weise, wie in der ersten Mitteilung beschrieben, durchgeführt. Die zu untersuchenden Algenstücke kommen nach Ermittlung des Frischgewichtes in 100 cm^3 Ostseewasser, das sich in Jodzahlkolben aus Jenenser Glas befindet und mit je $^1/_2$ cm^3 Chloroform versetzt ist. Während des Versuches werden die Gefäße häufig durchgeschüttelt. Nach bestimmten Zeiten wird in je einem Gefäß der Gehalt des Seewassers an gelöstem Phosphat sowie an gebundenem Phosphor bestimmt. Außerdem wird der im Algenstück verbliebene Restphosphor ermittelt. Obwohl wir fast sämtliche Versuchsserien mit dem gleichen in der Kieler Außenförde im Herbst geschöpften und sehr sorgfältig durch ein doppeltes Faltenfilter filtrierten Seewasser durchführten, wurde für jede Versuchsserie der Gehalt des chloroformhaltigen Versuchswassers an Phosphat und organisch gebundenem Phosphor stets von neuem ermittelt.

Die Bestimmung des gelösten Phosphates erfolgte wie früher nach dem von Kalle (1934) modifizierten Verfahren der Molybdänblaumethode nach Denigès und Atkins kolorimetrisch unter Verwendung des Elko II von Zeiss-Opton (Filter S 72)*.

Bei der Ermittlung des Gesamt-P der Algen wurde jedoch der früher eingeschlagene umständliche Weg der trockenen Veraschung im Nickeltiegel durch das nasse Aufschlußverfahren in konzentrierter Schwefelsäure und Perhydrol ersetzt. Hierbei wird der organisch gebundene Phosphor in Phosphat übergeführt und kann dann als solches leicht sehr genau bestimmt werden. Wir hielten uns dabei eng an das von Ohle (1938) mitgeteilte Verfahren, das sich ausgezeichnet bewährte. Arsen wurde durch Reduktion mit 4%igem Thiosulfat nach Kalle (1935), wie es auch Ohle empfiehlt, ausgeschaltet. Eisen war auch in der Asche der Algen nur in so geringen Mengen vorhanden, daß die Analysen nicht gestört wurden (vgl. Tischer 1934 sowie Black und Mitchell 1952).

Nach dem gleichen Verfahren konnte auch der Gehalt an gebundenem Phosphor im Seewasser ermittelt werden. Hierzu werden jeweils 20 cm^3 Seewasser mit konzentrierter Schwefelsäure und Perhydrol aufgeschlossen und die gelöste Phosphatmenge bestimmt. Bringt man die vor dem Aufschuß ermittelte Menge an freiem Phosphat in Abzug, so entspricht die Differenz dem vorhandenen gebundenen Phosphor.

Da es sich bei den Versuchen zum Teil nur um sehr geringe Phosphormengen handelt, muß noch kurz auf die Genauigkeit der Methodik eingegangen werden. Es ist immer wieder darauf hingewiesen worden, daß die Bildung des kolloiden Phosphormolybdänblaus in seiner Farbtiefe von den verschiedensten Außenbedingungen, wie Menge der zugesetzten Reagenzien, Salzgehalt, Zeitdauer, Temperatur und anderen abhängig ist. Es wird daher eine exakte quantitative Erfassung sehr geringer Phosphormengen nur dann möglich, wenn man peinlich genau stets unter völlig gleichen Bedingungen arbeitet. Es muß weiter auf sorgfältig von allen an den Glaswandungen absorbierten Phosphaten gereinigte Versuchsgefäße geachtet werden. Dann ist es ohne Schwierigkeiten möglich, eine Bestimmung von $1\gamma/1\ P(PO_4)$ und weniger sehr exakt durchzuführen.

* Der deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Mittel zur Beschaffung des Gerätes.

Nach OHLE ist auch die von ihm gegebene Bestimmung von organisch gebundenem Phosphor völlig quantitativ durchführbar. Wir prüften die Methode, indem wir pulverisiertes Eigelb sehr sorgfältig und gleichmäßig in Wasser verteilten und bestimmte Volumenmengen der Suspension zur Analyse brachten. Es wurden hierbei bei Vorlage von je 1,5 mg Eipulver (s. KALLE 1935) folgende Gehalte an $P(PO_4)$ nach Abzug der Korrekturen des Blindwertes der angewandten Reagenzien gefunden*.

Tabelle 1. *γ $P(PO_4)$ in 1,5 mg Eipulver.*

Reihe I	Reihe II	Reihe III
9,3	8,8	8,2
8,3	8,8	8,7
8,3	8,3	8,7
8,5	8,8	8,7
8,3	9,0	7,8
Mittel: 8,54	8,74	8,42
σ: $\pm$0,39	σ: $\pm$0,23	σ: $\pm$0,37

Die Bestimmung ist also mit befriedigender Genauigkeit durchführbar.

III. Die Remineralisierung des Phosphors bei *Ulva Lactuca*.

Wir hatten in unserer ersten Mitteilung für *Ulva Lactuca* gezeigt, daß bei 24stündigen Versuchen unter Autolysebedingungen etwa 25 bis 30% des in den Algen vorhandenen Gesamtphosphors als freies Phosphat an die Außenlösung abgegeben wird, daß aber andererseits der in den Algenstücken bei Versuchsende noch vorhandene Gehalt an Restphosphor ebenfalls nur etwa 20—30% des ursprünglich vorhandenen Gesamtphosphors beträgt. Es ergab sich also eine Differenz von 40—50% gegenüber dem Gesamtphosphorgehalt der Alge, über die Genaueres nicht mitgeteilt werden konnte. Mit Hilfe der jetzt angewandten Methodik läßt sich nun leicht nachweisen, daß diese Differenz in der Tat

Tabelle 2. *Ulva Lactuca.*

Zeit	Frisch-gewicht mg	$P(PO_4)$ in γ			Gesamt-P der Probe $P(PO_4)$ γ	% vom Gesamt-P		
		herausgelöst als		Rest-P		herausgelöst als		Rest-P
		PO_4	gebundener P			PO_4	gebundener P	
15 min	65,9	2,8	17,2	20,1	40,1	7,0	42,9	50,1
30 min	62,5	3,1	17,2	18,1	38,4	8,1	44,8	47,1
60 min	75,5	3,4	16,9	17,9	38,2	8,9	44,2	46,9
4 Std	52,4	4,0	20,3	14,0	38,3	10,5	53,0	36,5
12 Std	55,0	7,2	15,1	13,5	35,8	20,1	42,2	37,7
24 Std	63,1	14,2	15,3	12,4	41,9	33,9	36,5	29,6

* Sämtliche Analysen wurden von Frl. MARIANNE SCHULZ durchgeführt. Ich möchte ihr dafür sowie für ihre Mithilfe bei der Durchführung der Versuche auch an dieser Stelle danken.

darauf zurückzuführen ist, daß unter den Versuchsbedingungen neben den in der Alge frei gelösten und den durch Remineralisierung aus organischen Phosphorverbindungen freigemachten Phosphaten auch gebundener, und zwar vermutlich organisch gebundener Phosphor an das Seewasser abgegeben wird. Die Ergebnisse einer Versuchsserie sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Man sieht, daß neben dem Phosphat, dessen Anteil mit zunehmender Versuchsdauer in der Außenlösung wächst, im Durchschnitt etwa 43 bis 44% des Gesamt-P der Alge als gebundener Phosphor an das Versuchswasser abgegeben werden. In anderen Versuchsreihen wurden zum Teil höhere (etwa 53%), zum Teil niedrigere Werte (im Durchschnitt 33, 35 und 39%) gefunden. Man könnte daran denken, daß die Lösung des gebundenen Phosphors in den Versuchen durch den Chloroformzusatz bedingt ist. Daß das nicht der Fall ist, läßt sich leicht zeigen, wenn man Thallusstücke durch kurzes Eintauchen (3 sec) in kochendes Wasser abtötet und sofort in chloroformfreies destilliertes Wasser bringt, das, um eine Bakterienwirkung auszuschließen, sterilisiert ist. Nach bestimmten Zeiten werden dann die üblichen 3 Phosphoranteile bestimmt. Tabelle 3, in der ein solcher Versuch wiedergegeben ist, zeigt, daß auch in chloroformfreiem Wasser ein beträchtlicher Anteil (etwa 47%) als gebundener Phosphor gelöst ist.

Tabelle 3. *Ulva Lactuca.*

Zeit	Frisch-gewicht	Gesamt-P $P(PO_4)$	% vom Gesamt-P		
			herausgelöst als		Rest-P
min	mg	γ	PO_4	gebundener P	
15	94,8	27,8	3,5	49,0	47,5
30	89,9	26,3	3,1	59,5	37,5
60	76,1	22,3	4,8	45,0	50,2
120	63,2	18,5	5,9	36,8	57,3

Wir neigen zu der Ansicht, daß es sich bei den herausgelösten Phosphorverbindungen um wasserlösliche Phosphatide handelt. Die Möglichkeit, daß aus den Zellen kolloide Substanzen freiwerden, die gelöste Phosphate durch Absorption binden und damit dem üblichen Nachweis entziehen, erscheint uns kaum wahrscheinlich, da man dann auch für Ulva das Vorhandensein freier Phosphate im Thallus in relativ großen Mengen fordern müßte, die sofort von den freiwerdenden kolloiden Stoffen gebunden werden müßten. Nach den mikrochemischen Untersuchungen Kylins (1916) sowie unseren eigenen Untersuchungen sind aber bei Ulva freie Phosphate im Gegensatz zu Fucus nur in sehr geringem Umfange vorhanden.

Die in Tabelle 2 angeführte Versuchsreihe bestätigt weiterhin unser früheres Ergebnis, daß eine Freisetzung anorganischen Phosphates nur etwa bis zu 30% erfolgt, im Gegensatz zu *Fucus vesiculosus*, bei dem

wir Werte feststellen konnten, die bis zu 70% betrugen. Die Remineralisierung wird aber durch diese Menge nicht ganz richtig wiedergegeben. Tötet man nämlich die Algenstücke durch kurzes Eintauchen (3 sec) in kochendes Wasser ab und bringt sie sofort unter den geschilderten Bedingungen in das chloroformhaltige Seewasser, so findet jetzt ebenfalls eine sehr rasche Phosphatabgabe statt, die aber schon nach $^1/_2$ Std beendet ist, und zwischen 5—8% des Gesamtphosphorgehaltes der Alge beträgt. Wir müssen annehmen, daß diese Mengen zum größten Teil als anorganisch gespeichertes Phosphat in den Algen vorhanden ist, wenn auch sicher ein gewisser Anteil davon aus Phosphorsäureestern stammt, die durch die Hitzewirkung eine Hydrolyse erfahren. Wir können also erst die über den Betrag von 5—8% hinausgehenden, nach spätestens $^1/_2$ Std in der Außenlösung in zunehmenden Mengen nachgewiesenen Phosphate als durch Mineralisation entstanden ansehen. Wie wir in unserer ersten Mitteilung ausführten, können wir den Prozentsatz der mineralisierten organischen Phosphorverbindungen berechnen. So ergeben sich für den oben angeführten Versuch, bei dem nach $^1/_2$ Std mit 8,1% alle im Thallus vorhandene freie Phosphorsäure herausgelöst ist, folgende Werte (s. Tabelle 4).

Tabelle 4. *Ulva Lactuca.*

Zeit	Gesamt-P der Probe	8,1% als freies PO_4	Gebundener $P(PO_4)$	Herausgelöstes PO_4	Remineralisierter $P(PO_4)$	
	γ	γ	γ	γ	γ	%
15 min	40,1	3,3	36,8	2,8	—	—
30 min	38,4	3,1	35,3	3,1	—	—
60 min	38,2	3,1	35,1	3,4	0,3	0,85
4 Std	38,3	3,1	35,2	4,0	0,9	2,55
12 Std	35,8	2,9	32,9	7,2	4,3	13,06
24 Std	41,9	3,4	38,5	14,2	10,8	28,05

Es kann aber vorläufig nicht entschieden werden, ob hierbei nur die organischen Phosphorverbindungen im Thallus eine zunehmende Remineralisation erfahren, oder ob auch die herausgelösten organischen Phosphorverbindungen durch Fermente, die ebenfalls an das Seewasser abgegeben werden, weiter abgebaut werden. STEINER (1938a) hat bei seinen Versuchen mit Süßwasserplankton über eine solche Abgabe phosphatabspaltender Fermente berichtet. Das Absinken der Prozentwerte sowohl für den Restphosphor im Algenthallus als auch im Seewasser (vgl. Tabelle 2) scheint auf beide Vorgänge hinzudeuten. Das gilt aber nur für einige Versuchsreihen. In anderen war lediglich eine Abnahme des Restphosphors im Thallus nachweisbar.

In den Versuchsreihen wurden die Phosphatfraktionen stets getrennt bestimmt und daraus der Gesamt-P-Gehalt des untersuchten Algen-

stückes berechnet. Zur Kontrolle wurde jedoch außerdem stets für einige den Versuchsproben benachbarte Thallusstücke der Gesamt-P-Gehalt direkt ermittelt. Es ist von vornherein anzunehmen, daß in einem morphologisch praktisch völlig undifferenzierten Thallus einer Ulvapflanze eine relativ gleichmäßige Verteilung der biochemischen Komponenten zu finden ist, so daß schon einige wenige Proben repräsentativ für den ganzen Thallus sein müssen. Leider ist das durchaus nicht der Fall, wenn auch die Schwankungen des Gesamtphosphorgehaltes innerhalb eines Thalluslappens sehr viel geringer ausfallen, als wir es für die Thallusspitzen von *Fucus vesiculosus* innerhalb einer Pflanze fanden. In der nebenstehenden Tabelle 5 sind von 2 Thalluslappen verschiedener Pflanzen die Gesamtphosphorwerte einander benachbarter Stücke aufgeführt.

Tabelle 5. *Ulva Lactuca.*

Pflanze	Frischgewicht mg	Gesamt-P(PO_4)	
		γ	%
A	16,5	10,0	0,0606
	14,5	9,8	0,0676
	16,0	9,0	0,0563
	14,0	9,5	0,0678
	18,0	9,5	0,0528
			0,061 ± 0,006
B	17,2	9,0	0,0526
	14,8	9,5	0,0642
	18,0	8,5	0,0472
	19,0	10,4	0,0547
	19,3	8,8	0,0456
			0,0529 ± 0,0066

Die mittleren Abweichungen des Gesamtphosphorgehaltes innerhalb eines Thallus können also 10—12% betragen.

In der folgenden Tabelle 6 sind nun von 4 Versuchsserien die für die einzelnen Thallusstücke in den Versuchen ermittelten Gesamt-P-Werte und die direkt bestimmten Werte benachbarter Thallusstücke der gleichen Pflanze aufgeführt.

Man sieht, daß die Unterschiede zwischen den direkt bestimmten und berechneten Werten mit wenigen Ausnahmen innerhalb der zu erwartenden Streuungen von etwa 10—12% liegen. Algenstücke verschiedener Individuen, wie sie ja durch jede Versuchsreihe repräsentiert sind, können jedoch nicht miteinander verglichen werden, da die Mittelwerte der einzelnen Reihen bzw. Algen sehr erheblich voneinander abweichen können und außerhalb der zu erwartenden Streuungen liegen. Eine Ursache für diese individuellen Unterschiede kann vorläufig mit Sicherheit nicht gefunden werden. Vermutlich wird das Alter der Pflanzen, das ja vor allem bei losgerissenen Exemplaren nicht festzustellen ist, von Bedeutung sein, ebenso auch die Ernährung, obwohl es oft schwer verständlich erscheint, daß Individuen, die an der gleichen Fundstelle unmittelbar nebeneinander wachsen, sich oft erheblich unter-

Tabelle 6. *Ulva Lactuca.*

Zeit	Versuchsreihe A		Versuchsreihe B		Versuchsreihe C		Versuchsreihe D	
	Gesamt-P $P(PO_4)$ γ	% $P(PO_4)$ Frisch-gewicht	Gesamt-P $P(PO_4)$ γ	% $P(PO_4)$ Frisch-gewicht	Gesamt-P $P(PO_4)$ γ	% $P(PO_4)$ Frisch-gewicht	Gesamt-P $P(PO_4)$ γ	% $P(PO_4)$ Frisch-gewicht
15 min	40,1	0,0609	28,6	0,0519	—	—	33,5	0,039
30 min	38,4	0,0614	34,9	0,0684	—	—	28,0	0,0496
60 min	38,2	0,0506	25,1	0,0541	42,7	0,0702	—	—
4 Std	38,3	0,0731	20,8	0,0428	47,9	0,0703	32,9	0,0405
12 Std	35,8	0,0651	25,7	0,0538	—	—	—	—
24 Std	41,9	0,0664	24,9	0,0509	46,9	0,0702	38,8	0,0419
	Mittel:	0,063 ±0,0068		0,052 ±0,0078		0,0702		0,0425 ±0,0041
				Direkt ermittelt.				
	a) 0,0688			0,0547		0,0713		0,0392
	b) 0,0602					0,0613		
	Mittel: 0,0645					0,0663		

scheiden können. Von JACOBI (1953) wird ähnliches auch für den Stickstoffgehalt von Ulva nachgewiesen.

IV. Die Verteilung des Phosphors im Thallus von Braunalgen.

a) Fucus.

Es war oben schon darauf hingewiesen worden, daß bei *Fucus vesiculosus* der Gesamtphosphorgehalt der Thallusspitzen auch innerhalb eines Individuums große Schwankungen aufweisen kann. Wie uns weitere Versuche zeigten, wird die Inhomogenität der Phosphorverteilung im Fucus-Thallus auch noch durch die morphologisch sehr deutlich ausgebildete Mittelrippe verstärkt. So fanden wir bei *Fucus serratus* den Gesamtphosphorgehalt der Thallusspreiten ohne Rippe im mittleren Teil der Pflanze mit 0,0582% auf Frischgewicht berechnet, in der Mittelrippe dagegen mit nur 0,023%, und auf Trockengewicht bezogen, entsprechend mit 0,277% und 0,112%. Dazu treten erhebliche Unterschiede je nachdem, ob man Basisteile, Mittelstücke oder Thallusspitzen der Alge untersucht. Für 2 *Fucus-serratus*-Pflanzen von 45 bzw. 40 cm Länge sind in der folgenden Tabelle 7 die gefundenen Gesamtphosphorwerte in den verschiedenen Regionen wiedergegeben.

Man erkennt sehr klar, daß, abgesehen davon, daß der Wassergehalt in den älteren basalen Teilen der Algen zum Teil wesentlich niedriger als in den Spitzen ist, eine erhebliche Zunahme des Gesamtphosphorgehaltes in den Spitzen erfolgt, die sich sowohl auf Frischgewicht als auch auf Trockengewicht bezogen, klar ausprägt. Die bei *Fucus vesi-*

Tabelle 7. *Fucus serratus.*

Thallusregion	Pflanze A: ♂			Pflanze B: ♀		
	H_2O %	Gesamt-P in %		H_2O %	Gesamt-P in %	
		Frischgewicht	Trockengewicht		Frischgewicht	Trockengewicht
Haftscheibe	73,3	0,055	0,205	—	—	—
Basisstück	74,5	0,060	0,235	81,2	0,083	0,443
Thallus zwischen 1. und 2. Gabelung	73,6	0,064	0,229	80,5	0,063	0,321
Mittelstück (24 cm oberhalb Haftscheibe)	74,3	0,068	0,262	74,4	0,050	0,195
Thallusspitzen: steril	82,7	0,082	0,473	84,2	0,096	0,607
	—	—	—	85,7	0,091	0,633
♂	83,2	0,106	0,630	—	—	—
	83,2	0,094	0,557	—	—	—
♀	—	—	—	86,0	0,0882	0,630
	—	—	—	82,9	0,0882	0,54

culosus früher beobachtete Abnahme des Phosphorgehaltes der Thallusspitzen, sobald die Rezeptakel ausgebildet sind, ist für *Fucus serratus* nicht erkennbar. Wir möchten daraus aber vorerst keine weiteren Schlüsse ziehen, da bei den früheren Untersuchungen nicht genügend beachtet wurde, in welchem Zustande sich die fertilen Thallusspitzen befanden. Wir halten eine enge Beziehung zwischen dem hohen Phosphorgehalt der Thallusspitzen kurz vor der Ausbildung der Fortpflanzungsorgane und deren endgültigen Ausbildung für sehr wahrscheinlich. Denn bei Untersuchung des Stickstoffhaushaltes von *Fucus vesiculosus* konnte Jacobi (1953) nachweisen, daß zur Zeit der Rezeptakelbildung nicht nur der Gesamt-N der Thallusspitzen den höchsten Wert erreicht, sondern auch der Anteil der säurelöslichen Stickstofffraktion mit fast 50% ein Maximum aufweist. Im übrigen findet Jacobi auch für *Fucus vesiculosus* eine Abnahme sowohl für den Wassergehalt als auch für den Gesamtstickstoff berechnet auf Trockengewicht von der Spitze zur Basis.

Zu den Verschiedenheiten innerhalb einer Pflanze treten nun noch individuelle Unterschiede. Zwar erscheinen diese nach den beiden in Tabelle 7 aufgeführten Pflanzen nicht sehr erheblich, wir fanden aber bei der Untersuchung steriler Thallusspitzen vielfach recht große Abweichungen. So schwankten in einem Versuch die Werte für die sterilen Thallusspitzen einer Pflanze zwischen 0,062 und 0,095% des Frischgewichtes. Das erschwert vergleichende Untersuchungen außerordentlich, so daß es uns aussichtsreicher erschien, flächige braune Formen heranzuziehen, deren geringe morphologische Differenzierung auch eine größere biochemische Homogenität erwarten ließ. Diesen Forderungen schienen uns am besten die Laminarien zu entsprechen, bei denen zunächst die Verteilung des Phosphors im Thallus untersucht wurde.

b) Laminarien.

Für die Untersuchung standen die beiden Arten *Laminaria saccharina* und *L. digitata* zur Verfügung. Aus dem Thallus konnten mit einem Korkbohrer (Durchmesser 8,6 bzw. 12,5 mm) genau gleiche Flächen herausgestanzt werden, die frisch zur Phosphorbestimmung kamen. Zur Ermittlung des Wassergehaltes wurden unmittelbar danebenliegende Thallusstücke verwendet. Bei späteren Versuchen ermittelten wir jedoch an der gleichen Thallusscheibe zunächst das Trockengewicht und bestimmten anschließend den Gesamtphosphorgehalt. Zum Wägen und Trocknen wurden dabei die Scheiben an kleinen Häkchen aus Silberdraht aufgehängt. Die Untersuchungen wurden während der Wintermonate durchgeführt, als das Wachstum der Thallusspreite schon eingesetzt hatte. Es wurden deshalb zur Probeentnahme sowohl junger Zuwachs als auch alter Thallus nebeneinander verwendet. Beide sind äußerlich meist sehr deutlich voneinander getrennt. Bei einigen Pflanzen konnten auch fruchtende Thallusstücke untersucht werden.

Die Ergebnisse, die trotz mannigfacher individueller Verschiedenheiten und Unregelmäßigkeiten eine klare Regel der Phosphorverteilung innerhalb einer Pflanze erkennen lassen, werden am besten an Hand von je einem Untersuchungsbeispiel für je eine Art betrachtet. In Abb. 1 sind die gefundenen Werte für *Laminaria saccharina* im Kurvenbild wiedergegeben. Auf der Abszisse ist die Länge der Pflanze unter Berücksichtigung der Gliederung aufgetragen. Dabei sind die Haftkrallen und der Stiel nur annähernd in gleichem Maßstab wie die Thallusfläche eingezeichnet. Auf der Ordinate sind Wassergehalt und Phosphorgehalt verzeichnet, der letztere in Prozenten des Trockengewichtes. Die Werte für die Thallusspreite liegen genau auf der Mittellinie, also in Verlängerung des Stieles.

Die Abbildung läßt sofort das verschiedene Verhalten der einzelnen Gliederungen der Alge erkennen. Bei allen untersuchten Exemplaren fällt der hohe Gehalt an Phosphor in den Haftkrallen, insbesondere deren Spitzen auf. Ihre dem Stiel genäherte Basis ist stets erheblich phosphorärmer. Für den Stiel gilt allgemein die Regel, daß der Phosphorgehalt von der Basis zur Spitze ansteigt, wie das auch in Abb. 1 sehr deutlich zum Ausdruck kommt. Die Höhe des Phosphorgehaltes kann aber bei den einzelnen Pflanzen sehr stark schwanken. In der von uns dargestellten Pflanze liegt der Wert erheblich über dem der Übergangszone vom Stiel zur Thallusspreite in Probe 1. Das muß nicht immer der Fall sein. Die Werte der Übergangszone können bei manchen Pflanzen höher liegen als die der Stiele, so daß ein stetes Ansteigen des Phosphorgehaltes vom Stiel aus in die Wachstumszonen der Thallusspreite beobachtet wird, wie das für *Laminaria digitata* (vgl. Abb. 3) regelmäßig der Fall ist.

In der Basis des Thallus steigt der P-Gehalt in den ersten 5—7 cm in der Regel an, um dann über die ganze Länge des seit November erfolgten Zuwachses meist ziemlich gleichzubleiben. Nur bei wenigen Pflanzen wurde ein schwaches Absinken der Werte beobachtet. Mit dem

Übergang zum alten Thallus fällt dann ausnahmslos bei allen untersuchten Pflanzen der P-Gehalt sehr plötzlich rasch ab. Soweit die alten Thalli noch für Untersuchungen geeignet waren, fanden wir stets die niedrigen Werte über die ganze Länge des Thallus. Werden Proben

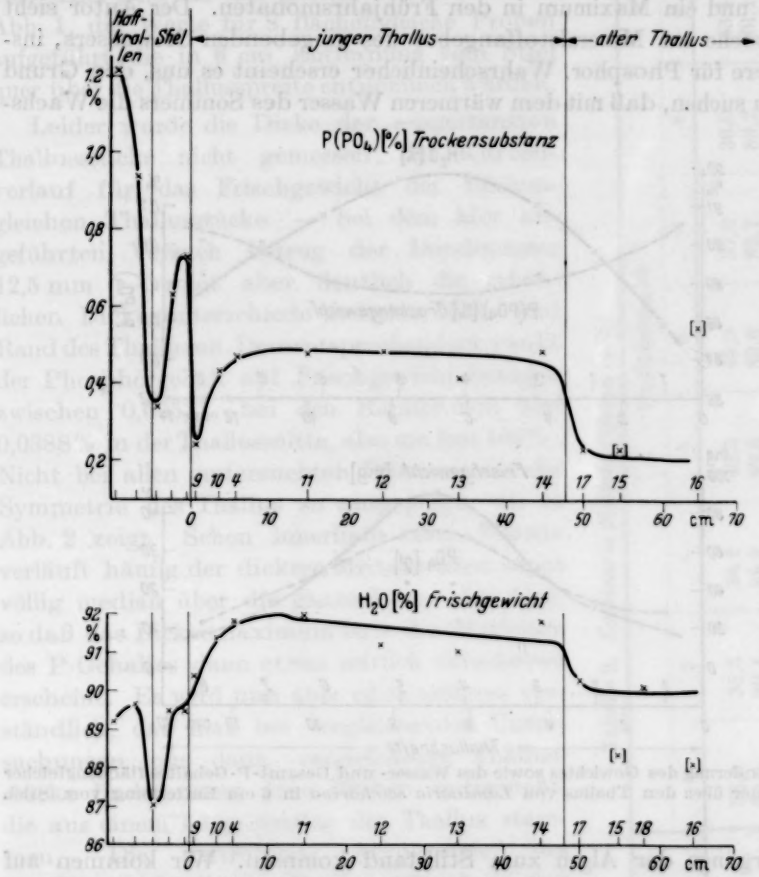


Abb. 1. Änderung des Wasser- und Gesamt-P-Gehaltes in der Längsrichtung einer *Laminaria saccharina*.

aus sporulierenden Geweben untersucht, wie die Proben 15 und 16 in Abb. 1, so zeigen sie durchweg einen noch niedrigeren Wassergehalt als das alte Thallusgewebe. In ihrem P-Gehalt verhalten sie sich verschieden je nach dem Entwicklungszustand der Sporangien. In Probe 15 hat der Sorus bereits sporuliert. Er weicht daher in seinem P-Gehalt nicht von dem in der Längsrichtung benachbartem Gewebe des alten Thallus ab. Die reifen, noch mit Sporen gefüllten Sori zeigen dagegen wie Probe 16 der Abb. 1 einen mehr oder weniger erhöhten P-Gehalt. Warum der alte Thallus wasserärmer ist und auch einen geringeren

Phosphorgehalt aufweist als der junge, ist vorläufig nicht klar zu beantworten. Es wird nötig sein, den Jahresgang des P-Gehaltes der Algen zu verfolgen. Für den Gesamtaschegehalt von *Laminaria saccharina* findet BLACK (1948) eine erhebliche Abnahme während der Sommermonate und ein Maximum in den Frühjahrsmonaten. Der Autor sieht die Ursache im Mineralstoffangebot des umgebenden Seewassers, insbesondere für Phosphor. Wahrscheinlicher erscheint es uns, den Grund darin zu suchen, daß mit dem wärmeren Wasser des Sommers die Wachs-

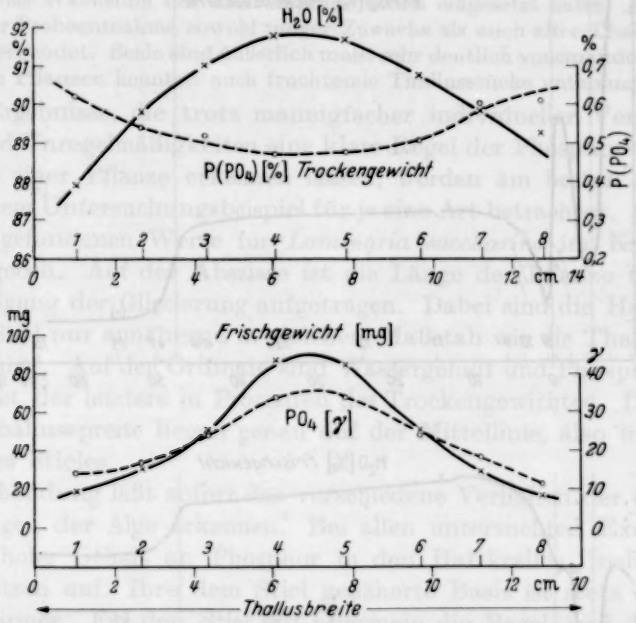


Abb. 2. Änderung des Gewichtes sowie des Wasser- und Gesamt-P-Gehaltes flächengleicher Proben quer über den Thallus von *Laminaria saccharina* in 6 cm Entfernung vom Stiel.

tumsvorgänge der Algen zum Stillstand kommen. Wir kommen auf diese Frage später noch einmal zurück. Es ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß die niedrigen Werte der alten Thalli erst kurz vor der Ausbildung der Sporangien auftreten und so andeuten, daß ein Teil des Phosphors bei der Reife der Sporangien zu deren Bildung zur Verfügung gestellt wird. Jedenfalls ist der auffallende Phosphorreichtum reifer Sporangien im Gegensatz zu dem umgebenden Thallusgewebe bemerkenswert. Von JACOBI (1953) konnte für den N-Gehalt der Laminarien ein solches Verhalten ebenfalls wahrscheinlich gemacht werden.

Das in Abb. 1 wiedergegebene Verhalten des Thallus wird aber nur dann angetroffen, wenn man die Proben in gerader Linie von der Basis zur Spitze entnimmt. Es ist dabei gleichgültig, ob man aus der Mittel-

linie des Thallus oder aus den Randpartien die Thallusstücke ausstanzt. Die Höhe der P-Gehalte ist in den beiden Reihen allerdings sehr verschieden. Das geht aus Abb. 2 deutlich hervor. Hier sind für die gleiche Pflanze, wie in Abb. 1, die Werte für 8 flächengleiche Proben aufgeführt, die in 6 cm Entfernung vom Stiel quer über die Thallusspreite entnommen wurden.

Leider wurde die Dicke der ausgestanzten Thallusstücke nicht gemessen, der Kurvenverlauf für das Frischgewicht der flächengleichen Thallusstücke — bei dem hier angeführten Versuch betrug der Durchmesser 12,5 mm — zeigt aber deutlich die erheblichen Dickenunterschiede zwischen Mitte und Rand des Thallus an. Dementsprechend schwankt der Phosphorgehalt auf Frischgewicht bezogen zwischen 0,0753% bei den Randproben und 0,0388% in der Thallusmitte, also um fast 100%. Nicht bei allen untersuchten Pflanzen war die Symmetrie des Thallus so ausgeprägt, wie es Abb. 2 zeigt. Schon innerhalb einer Pflanze verläuft häufig der dickere Mittelstreifen nicht völlig median über die ganze Länge der Alge, so daß das Dickenmaximum bzw. das Minimum des P-Gehaltes dann etwas seitlich verschoben erscheint. Es wird nun aber ohne weiteres verständlich, daß man bei vergleichenden Untersuchungen nur dann vergleichbare Thallusstücke findet, wenn man Proben untersucht, die aus einem Längsstreifen des Thallus stammen. Die auftretende Asymmetrie des Thallus wirkt dann oft sehr störend, so daß mit Sicherheit nur die Randgebiete Gewähr bieten, wirklich gutes vergleichbares Material zu bieten.

Für *Laminaria digitata* finden wir im Prinzip ganz ähnliche Verhältnisse. In Abb. 3 sind für eine ganze Pflanze entsprechend Abb. 1 die für die Thallusproben gleicher Fläche gefundenen Wassergehalte und Prozentwerte für den Gesamtphosphor bezogen auf Trockengewicht wiedergegeben.

Tabelle 8. *Laminaria digitata (Querschnitt).*

	Thallusprobe Nr.									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Frischgewicht in mg	35,0	35,5	38,2	40,5	41,0	37,8	36,0	33,4	33,3	
Wassergehalt in %	90,2	89,4	88,8	89,6	89,6	89,7	89,2	89,4	88,7	
$P(PO_4)$ in %	25,0	28,7	27,6	27,6	28,6	24,0	23,5	19,4	20,2	
$P(PO_4)$ in %: Frischgewicht	0,072	0,081	0,072	0,068	0,070	0,064	0,065	0,058	0,061	
$P(PO_4)$ in %: Trockengewicht	0,733	0,785	0,647	0,658	0,669	0,614	0,608	0,548	0,538	

Die Haftkrallen zeigen auch bei dieser Art höherer P-Werte als die Stiele, erreichen aber bei keiner der untersuchten Pflanzen die Höhe wie bei *Laminaria saccharina*. Innerhalb der Stiele steigt der Phosphorgehalt nur schwach an. Die Werte bleiben regelmäßig niedriger als die der Übergangszone zwischen Stiel und Thallusspreite. Im jungen Thallus

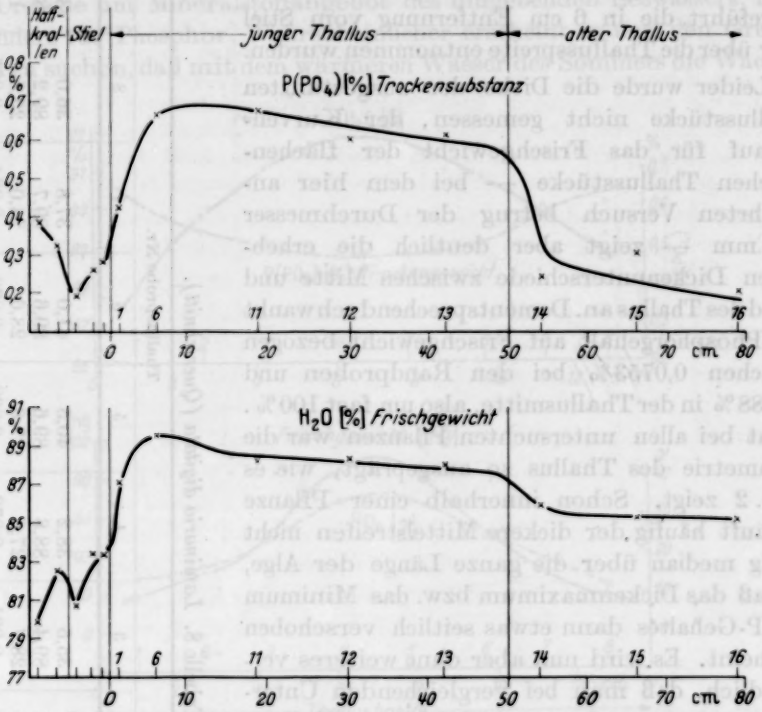


Abb. 3. Änderung des Wasser- und Gesamt-P-Gehaltes in der Längsrichtung einer *Laminaria digitata*.

halten sich die Phosphorwerte über die ganze Länge der Alge ziemlich auf gleicher Höhe. Bei einigen Pflanzen besteht allerdings eine leichte Tendenz zu einer geringen Abnahme mit zunehmender Entfernung vom Stiel. Der Übergang vom jungen zum alten Spreitengewebe ist auch bei *Laminaria digitata* stets sehr deutlich durch das Absinken des P-Gehaltes gekennzeichnet. Untersucht man die Verteilung des P in der Querrichtung des Thallus, so findet man, daß die flächengleichen Proben der mittleren Partien etwas schwerer, also auch dicker sind als die den Rändern entnommenen. Während aber bei *Laminaria saccharina* der Unterschied fast bis zum 6fachen der dünnen Randpartien betragen kann, erreicht er hier höchstens einmal das doppelte, vielfach sogar nur knapp 15—20%. Entsprechend sind auch für die übrigen Faktoren,

insbesondere für den prozentualen P-Gehalt, kaum deutliche Gradienten von der Mitte zu den Rändern nachweisbar, wie das aus Tabelle 8, in der für die neuen Proben einer Querreihe von einer 18 cm breiten Pflanze aufgeführt sind, hervorgeht. Probe 6 in der Tabelle entspricht auch der Probe 6 des Mittelstreifens in Abb. 3.

Für vergleichende Untersuchungen bietet daher diese Art hinsichtlich ihres P-Gehaltes gleichmäßigere Thallusstücke, vollends wenn die Entnahme in der Längsrichtung des Thallus und nicht zu nahe der Basis erfolgt. Das Basisgewebe, in dem sich die Tätigkeit der Wachstumszone noch stark bemerkbar macht, zeigt die stärksten Schwankungen der P-Werte auch bei nahe nebeneinander gelegenen Thallusstücken. Vielfach ist hier auch ein deutlicher Gradient von der Mitte zu den Rändern ähnlich wie bei *Laminaria saccharina* zu beobachten.

Während die für beide Arten besprochenen Verteilungsregeln des Gesamtphosphors innerhalb jeder einzelnen Pflanze immer wieder mit gewissen mehr oder weniger kleinen lokalen Unregelmäßigkeiten angetroffen werden, ist die Höhe des prozentualen Phosphorgehaltes bei den einzelnen Pflanzen oft sehr verschieden. So ergeben sich für die beiden Arten, wenn für *Laminaria sacharina* nur die Werte der Mittelreihe des jungen Zuwachses, für *Laminaria digitata* alle Werte dieser Zone gemittelt werden, folgende Phosphorgehalte (Tabelle 9).

Tabelle 9.

Pflanze	*Laminaria saccharina* % $P(PO)_4$		Pflanze	*Laminaria digitata* % $P(PO_4)$	
	Frisch-gewicht	Trocken-gewicht		Frisch-gewicht	Trocken-gewicht
I	0,0575	0,624	I	0,109	0,775
II	0,0420	0,596	II	0,0645	0,697
III	0,0520	0,578	III	0,0586	0,650
IV	0,0363	0,431	IV	0,0594	0,565
V	0,0401	0,597	V	0,068	0,625
VI	0,0415	0,423			

Eine Ursache für diese verschieden hohen durchschnittlichen Phosphorgehalte der einzelnen Pflanzen ist vorläufig nicht zu erkennen.

V. Die Remineralisierung des Phosphors bei Laminaria.

Die Remineralisierung des Phosphors bei Laminaria ist nur in wenigen Versuchsreihen untersucht. Leider ergaben sich bei *Laminaria digitata* Schwierigkeiten, die noch nicht überwunden sind, so daß vorerst nur über die Befunde an *Laminaria saccharina* berichtet werden kann. Die Ergebnisse einer Versuchsserie sind in Tabelle 10 wiedergegeben.

Tabelle 10. *Laminaria saccharina.*

Zeit	Frischgewicht mg	$P(PO_4)$ in γ herausgelöst als PO_4	$P(PO_4)$ in γ herausgelöst als gebundener P	$P(PO_4)$ in γ Rest-P	Gesamt-P der Probe $P(PO_4)$ γ	% vom Gesamt-P herausgelöst als PO_4	% vom Gesamt-P herausgelöst als gebundener P	% vom Gesamt-P Rest-P
30 min	19,4	7,0	3,5	3,1	13,6	51,6	25,7	22,7
90 min	17,8	7,2	1,6	3,6	12,4	58,0	12,9	29,1
3 Std	18,6	8,4	3,1	3,1	14,6	57,5	21,2	21,3
12 Std	16,2	7,8	2,7	2,3	12,8	60,9	21,1	18,0
22 Std	14,4	8,4	2,6	2,0	13,0	64,6	20,0	15,4

Die großen schon bei Beginn des Versuchs nach 30 min abgegebenen Phosphatmengen lassen sofort den Verdacht entstehen, daß auch hier wie bei Fucus größere Anhäufungen freien Phosphats im Thallus vorhanden sind. Es wurde daher zunächst durch Abtöten der Thallusproben in kochendem Wasser und sofortiges Einbringen der Stücke in Chloroformwasser der Anteil des freien Phosphats ermittelt. Es ergab sich, daß die Abgabe des Phosphates sich sehr rasch vollzieht und bei den dünnen vom Rand der Alge stammenden Proben spätestens nach $^1/_2$ Std beendet ist. Im Durchschnitt wird der Anteil ziemlich gleichmäßig mit 40% festgestellt. Legen wir diesen Wert zugrunde, so ergeben sich in unserer Versuchsreihe für den reinen autolytischen Abbau gebundenen Phosphors die in der folgenden Tabelle 11 aufgeführten Prozentwerte.

Tabelle 11. *Laminaria saccharina.*

Zeit	Gesamt-P der Probe γ	40 % als freies PO_4 γ	Gebundener $P(PO_4)$ γ	Herausgelöstes PO_4 γ	Remineralisiert $P(PO_4)$ γ	Remineralisiert $P(PO_4)$ %
30 min	13,6	5,4	8,2	7,0	1,6	19,5
90 min	12,4	4,9	7,4	7,2	2,3	36,1
3 Std	14,6	5,8	8,8	8,4	2,6	31,0
12 Std	12,8	5,1	7,7	7,8	2,7	35,0
22 Std	13,0	5,2	7,8	8,4	3,2	41,0

Es findet also eine mit der Zeit fortschreitende Abspaltung von Phosphorsäure statt, und zwar wahrscheinlich vorzüglich im Zellinneren, da die Werte für den Restphosphor in Tabelle 10 eine Abnahme mit zunehmender Versuchsdauer aufweisen. Ob die Remineralisierung des gebundenen Phosphors nach 24 Std schon ihr Ende erreicht hat, wurde noch nicht untersucht.

Von besonderem Interesse ist der Befund, daß auch bei *Laminaria saccharina* im Durchschnitt etwa $^1/_5$ des Gesamtphosphors in gebundener

Form an das Seewasser abgegeben wird (vgl. Tabelle 10). In anderen Versuchsreihen betrug die Abgabe des gebundenen Phosphors im Durchschnitt nur 10—12%. Genau wie bei Ulva überrascht auch hier, daß das Herauslösen dieser Phosphorkomponente außerordentlich schnell erfolgt und offensichtlich nicht von der Versuchsdauer abhängt.

Die aus den 3 bestimmten P-Fraktionen errechneten Gesamt-P-Werte stimmen, wie die folgende Zusammenstellung, Tabelle 12, zeigt, mit den direkt bestimmten Werten unmittelbar angrenzender Thallusproben befriedigend überein.

Auf die individuellen Unterschiede der Algen, wie sie sich in den einzelnen Reihen ausdrücken, ist oben schon hingewiesen worden.

Tabelle 12. *Laminaria saccharina.*

Versuchsreihe A			Versuchsreihe B			Versuchsreihe C		
Zeit	Gesamt-P $P(PO_4)$ γ	% $P(PO_4)$ Frischgewicht	Zeit	Gesamt-P $P(PO_4)$ γ	% $P(PO_4)$ Frischgewicht	Zeit	Gesamt-P $P(PO_4)$ γ	% $P(PO_4)$ Frischgewicht
30 min	13,6	0,070	30 min	54,2	0,076	15 min	43,1	0,059
90 min	12,4	0,070	60 min	48,9	0,077	30 min	53,3	0,080
3 Std	14,6	0,079	90 min	53,9	0,083	60 min	39,7	0,065
12 Std	12,8	0,079	5 Std	55,6	0,078	120 min	48,7	0,060
22 Std	13,0	0,090	$11^1/_2$ Std	54,6	0,088			
			24 Std	59,7	0,081			
	Mittel:	0,0775			0,0805			0,066
	±	0,0077		±	0,0042		±	0,0082
			Direkt ermittelt.					
		0,070		a)	0,0766		a)	0,065
				b)	0,0855		b)	0,060
				Mittel:	0,081		Mittel:	0,0625

VI. Schlußbetrachtungen.

Auf zwei Fragen muß zum Schluß noch näher eingegangen werden. Wenn wir zunächst den Vorgang der Remineralisierung des organisch-gebundenen Phosphors betrachten, so hat STEINER (1938a, b) zuerst bei Planktonorganismen des Süßwassers auf die Bedeutung autolytischer Abbauvorgänge für diesen Prozeß hingewiesen. Der gleiche Autor (1948) hat auch bei herbstlichen Laubblättern und bei Fallaub im Experiment gezeigt, daß hier Autolysevorgänge bei der Bildung löslicher Phosphate aus den organischen Phosphorverbindungen eine wesentliche Rolle spielen. Hierbei konnten bis zu 60% des ursprünglichen Gesamt-P der Blätter in Phosphate umgewandelt werden. Der Autor mißt diesen Vorgängen auch für die Remineralisierung des Phosphors in abgefallenen Laubblättern im Herbst in der Natur, die zweifellos durch mikrobiellen und pilzlichen Abbau noch verstärkt wird, reale Bedeutung zu. Es

scheint uns nicht zweifelhaft, daß auch bei den marinen Benthosalgen, für die wir gleichfalls experimentell den Nachweis des autolytischen Abbaues eines hohen Prozentsatzes vom Gesamt-P der Zelle erbringen konnten, beim Absterben autolytische Vorgänge für die Remineralisierung des Phosphors eine zum Teil wesentliche Rolle spielen. Dafür spricht schon die relativ große Geschwindigkeit, mit der diese Vorgänge ablaufen können. Fanden wir doch bei *Fucus vesiculosus*, *Ulva Lactuca* und *Laminaria saccharina* nach 10—12 Std bis zu 30% der gebundenen organischen Phosphorverbindungen remineralisiert. Daß in der Natur allerdings mikrobielle Vorgänge ebenfalls wesentlich sind, erscheint uns um so wahrscheinlicher, als ganz allgemein die Benthosalgen in hohem Maße mit Bakterien vergesellschaftet sind.

Bei den Untersuchungen an Benthosalgen ist aber noch ein weiterer für den Stoffkreislauf im Meere interessanter Befund gemacht worden. Wir konnten zeigen, daß bei *Ulva Lactuca* und *Laminaria saccharina* — nach noch nicht abgeschlossenen und hier nicht mitgeteilten Versuchen sicher auch bei *Laminaria digitata* und *Fucus serratus* — unmittelbar nach dem Absterben der Zellen nicht unbeträchtliche Mengen gebundenen Phosphors an das Seewasser abgegeben werden. Für Ulva konnten wir schon nach 15 min eine Abgabe von 30—50%, für *Laminaria saccharina* von 10—20% feststellen. Bei *Laminaria digitata* und *Fucus serratus* liegen die bisher ermittelten Werte in der gleichen Größenordnung wie bei Ulva. Wir haben dabei zunächst allgemein nur von gebundenem Phosphor gesprochen, haben aber bereits die Vermutung zum Ausdruck gebracht, daß es sich dabei um lösliche organische Phosphorverbindungen handelt, eine Annahme, die im Rahmen hydrochemischer Untersuchungen allgemein verbreitet ist.

Es ist nun in der Meereskunde in den letzten Jahren in zunehmendem Maße auf die große Bedeutung der organisch gebundenen löslichen P-Verbindungen für den Kreislauf des Phosphors im Meer hingewiesen worden. ARMSTRONG und HARVEY (1951) sehen die Ursache für das Auftreten dieser Verbindungen in erster Linie in Verdauungsprodukten der marinen Tiere, insbesondere der Zooplankter. GILLBRICHT (1952) denkt an eine Abgabe organisch gebundenen Phosphors durch die Kieselalgen, ohne allerdings einen bündigen Beweis dafür zu erbringen. Die von uns für marine Benthosalgen mitgeteilten Befunde machen es nun aber außerordentlich wahrscheinlich, daß sich auch beim Absterben der marinen Phytoplankter ganz ähnliche Vorgänge, wie wir sie für Benthosalgen nachweisen konnten, abspielen, die in weit stärkerem Maße, als es bei diesen der Fall ist, die für den Kreislauf des P gewissermaßen inaktive Phase des löslichen organisch gebundenen P vermehren*.

* Eine experimentelle Untersuchung dieser Frage ist bereits in Angriff genommen.

Der 2. Punkt, der noch einer kurzer Erörterung bedarf, ist die Verteilung des Phosphors im Laminariathallus. Es sind in den letzten Jahren eine große Anzahl biochemischer Untersuchungen an Laminariaarten durchgeführt worden, bei denen eine Reihe verschiedener chemischer Komponenten im Jahreszyklus oft über mehrere Jahre analytisch ermittelt wurde (BLACK 1948, 1950, BLACK und DEWAR 1949 u. a.). Hierbei kamen aber stets ganze Pflanzen zur Analyse, höchstens wurden noch Stiel und Lamina des Thallus unterschieden. Über eine differenzierte biochemische Untersuchung einzelner Algenthalli berichten jedoch RINCK und BROUARDEL (1949) und BROUARDEL und RINK (1950). Sie untersuchten an Einzelpflanzen von *Laminaria flexicaulis* (= *L. digitata*) die Verteilung von Jod und Kali. Entsprechend der morphologischen Gliederung finden die Autoren sehr wechselnde Verteilung der untersuchten Komponenten. So können sie übereinstimmend mit unseren Befunden für Phosphor eine auffallende Häufung in den Haftkrallen nachweisen. Im Stiel, der bei den Laminarien der Atlantikküsten gegenüber den kaum 5 cm langen und knapp $^1/_2$ cm dicken Stielen der Ostseepflanzen mit 40—50 cm Länge und fast 3 cm Durchmesser erhebliche Ausmaße besitzt, wird ein schwaches Ansteigen von der Basis zur Spitze gleichfalls für beide Komponenten festgestellt, dem dann ein Abfall in der Übergangszone zur Thallusspreite folgt. Etwa 10—20 cm oberhalb des Stiels finden die Autoren in der Spreite ein Minimum, von dem an der Gehalt an Jod und Kali bis zum Thallusende stetig ansteigt. Hier weicht also die Verteilung der beiden Elemente gegenüber dem Phosphorvorkommen in unseren Ostseepflanzen ab. Für diese stellen wir etwa 5—7 cm oberhalb des Stieles ein Maximum an P fest. Von JACOBI (1953) wird bei einer Untersuchung der Verteilung des Gesamt-N bei *Laminaria sacharina* ein ganz ähnliches Verhalten nachgewiesen. Auch hinsichtlich der querverlaufenden Gradienten bei *Laminaria saccharina* decken sich seine Befunde mit den von uns gemachten Beobachtungen, während aus den Zahlen von BROUARDEL und RINCK sich ergibt, daß für *Laminaria digitata* ein Quergradient für Jod und Kali nur wenig ausgeprägt ist, sowie wir es auch für Phosphor bei dieser Art fanden.

Die enge Übereinstimmung des Verhaltens von N und P legt den Gedanken nahe, darin eine Beziehung der beiden Größen zum Plasma zu suchen. Da aber bei den P-Werten bisher der Anteil des freien Phosphates, das nach KYLIN (1916) in der Spreitenbasis des Thallus in sehr viel größeren Mengen als in den älteren Thallusteilen gehäuft ist, nicht bekannt ist, kann aus der Übereinstimmung ein solcher Schluß nicht ohne weiteres gezogen werden. Immerhin glauben wir, daß die Häufung der beiden Komponenten an der Basis mit der besonderen physiologischen Leistung dieser Zone in Zusammenhang steht. Denn ohne Zweifel ist die Ursache für das Auftreten biochemischer Gradienten bei morpho-

logisch gleichmäßig erscheinendem Gewebe in physiologischen Differenzierungen zu suchen. Bei den Laminarien sind diese in erster Linie durch Wachstumsvorgänge gegeben. So ist seit langem bekannt, daß die Wachstumszone an der Basis der Spreite des Thallus liegt. Aber erst durch die schönen Untersuchungen, die PARKE (1948) während mehrerer Jahre an *Laminaria saccharina* durchgeführt hat, wissen wir Genaueres über die Vorgänge des Längen- und Breitenwachstums in den Laminariaspreiten und -stielen. Neben der Hauptzone des Wachstums, die das Maximum ihrer Tätigkeit entsprechend dem Jahreszyklus des Gesamtwachstums in der Zeit von Januar bis Juli mit einem Optimum im März bis April an den englischen Küsten aufweist, findet die Autorin in den ersten 10 cm über der Wachstumszone, die sich etwa bis 2,5 cm vom Stiel aus in die Spreite erstreckt, eine sekundäre Wachstumszone, deren Haupttätigkeit gegenüber der Hauptzone aber im Jahreszyklus um 2 Monate verschoben ist. Schließlich kann PARKE auch noch eine weitere sekundäre Wachstumszone im oberen Teil der Spreite nachweisen, deren Tätigkeit zeitlich wieder mit der der Hauptzone zusammenfällt.

Inwieweit die von PARKE für die Pflanzen an der englischen Süd- und Westküste festgestellten jahreszeitlichen Verhältnisse der Tätigkeit der einzelnen Wachstumszonen auch auf die Pflanzen der westlichen Ostsee übertragbar sind, kann ohne eingehende Untersuchungen nicht gesagt werden. Nach unseren bisherigen langjährigen Beobachtungen dürften die Optimalzeiten der einzelnen Wachstumsphasen etwas verschoben sein. Vor allem dürfte der Beginn der Hauptwachstumszeit, den PARKE vom Januar an angibt, schon früher eintreten. Grundsätzlich wird man aber die gleichen Verhältnisse wiederfinden. Es ist daher naheliegend, die hohen P- und N-Werte der Basiszone, wie sie von uns und JACOBI gefunden werden, mit der Tätigkeit der Hauptwachstumszone in Zusammenhang zu bringen. Wahrscheinlich wird auch manche von uns beobachtete lokale „Unregelmäßigkeit" im Gradientenverlauf dann, wenn eine dichtere Lagerung der Beobachtungspunkte vorliegt, dadurch zu erklären sein, daß diese Proben in eine der sekundären Wachstumszonen fallen. Wir möchten es sogar für möglich halten, daß bei einer sehr engliegenden und umfangreichen Probeentnahme auf Grund der chemischen Befunde die Lage dieser Wachstumszonen sehr genau festzulegen sein wird. Leider sind diese ja äußerlich ohne bestimmte, nur schwer anzuwendende Hilfsmaßnahmen nicht sichtbar.

Neben Wachstumsvorgängen können weiterhin besondere Entwicklungszustände der Alge als Ursache biochemischer Verschiedenheiten im Algenthallus in Frage kommen. Das hat besonders Moss (1948, 1950, 1952) in ihren ausführlichen Untersuchungen an Fucus und Himanthalia gezeigt. So weist z. B. bei Fucus der Mannitgehalt im Sommer in sterilen Thallusspitzen ein Maximum, bei fertilen aber ein Minimum auf, ganz

entsprechend verhalten sich auch die Trockengewichte. Auch JACOBI (1953) findet bei Fucus und Laminaria enge Beziehungen zwischen Anteil des säurelöslichen Stickstoffes am Gesamtstickstoff und Ausbildung der Fortpflanzungsorgane. Daß auch der Phosphorgehalt der Thalli bei Laminaria und Fucus mit der Ausbildung der Fortpflanzungskörper eine erhebliche Veränderung erfahren kann, wurde oben schon erwähnt. Bei der Untersuchung einander entsprechender Thallusstücke einzelner Pflanzen werden solche Einflüsse leicht erfaßt werden. Man muß aber auch dann, wenn Pflanzen als Ganzes untersucht werden, einen Einfluß auf die als Durchschnitt der ganzen Pflanze ermittelten Werte erwarten, da der Anteil der fruchtenden Teile der Algen häufig sehr beträchtlich ist. Man wird daher, wie das auch MOSS und JACOBI betonen, bei solchen über einen Jahreszyklus durchgeführten biochemischen Untersuchungen ebenfalls den Rhythmus der Entwicklung zum Ausdruck kommen sehen und nicht, wie das von BLACK und anderen betont wird, die Schwankungen der gefundenen Werte nur auf Einflüsse von Außenfaktoren zurückführen können.

Zusammenfassung.

1. Bei dem autolytischen Abbau des in der Zelle gebundenen Phosphors wird bei *Ulva Lactuca* festgestellt, daß neben den durch Mineralisierung abgespaltenen Phosphaten etwa 40—50% der ursprünglich im Thallus vorhandenen Phosphormenge als gebundener Phosphor, wahrscheinlich in organischer Form an das Seewasser abgegeben werden.

2. Eine Untersuchung der Verteilung des P im Thallus von *Fucus serratus* zeigt eine erhebliche Zunahme des Gesamt-P in den Thallusspitzen.

3. Bei *Laminaria saccharina* wird in den Haftkrallen der höchste P-Gehalt gefunden. Die Thallusspreite zeigt kurz oberhalb der basalen primären Wachstumszone ein P-Maximum, von dem an der P-Gehalt nach dem Thallusende zu mehr oder weniger abfällt. Alte Thallusteile weisen nur niedrige P-Werte auf, die jedoch in den fertilen Sori der alten Spreite plötzlich ansteigen. Bei *Laminaria digitata* finden sich mit geringen Abweichungen ähnliche Verhältnisse.

4. Im Querschnitt der Laminarienthalli sind die P-Werte der dickeren Mittelpartien niedriger als die der dünneren Thallusränder.

5. Bei dem autolytischen Abbau des gebundenen Phosphors im Laminarienthallus werden wie bei Ulva neben den freigesetzten Phosphaten etwa 10—20% des Gesamt-P in gebundener Form an das Seewasser abgegeben.

6. Es wird die Bedeutung der Remineralisationsvorgänge für den Phosphorkreislauf im Meer erörtert sowie auf die physiologischen Ursachen der wechselnden Verteilung des Phosphors im Algenthallus hingewiesen.

Literatur.

Armstrong, F., u. H. Harvey: The cycle of phosphorus in the waters of the English Channel. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **29**, 145—162 (1951). — Black, W. A. P.: The seasonal variation in chemical constitution of some of the sublittoral Seaweeds common to Scotland. J. Soc. chem. Industr. **67**, 165—176 (1948). — The seasonal variation in weight and chemical composition of the common British Laminariaceae. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **29**, 45—72 (1950). — Black, W. A. P., and E. T. Dewar: Correlation of some of the physical and chemical properties of the Sea with the chemical constitution of the Algae. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **28**, 673—699 (1949). — Black, W. A. P., and R. L. Mitchell: Trace elements in the common brown Algae and in sea water. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **30**, 575—584 (1952). — Brouardel, J., et E. Rinck: Le potassium chez *Laminaria flexicaulis* et les prétendues transmutations de cet élément. Bull. Inst. océanogr. Monaco **1950**, Nr 967. — Gillbricht, M.: Untersuchungen zur Produktionsbiologie des Planktons in der Kieler Bucht. II: Die Produktionsgröße. Kiel. Meeresforsch. **9**, 51—61 (1952). — Hoffmann, C., u. M. Reinhardt: Zur Frage der Remineralisation des Phosphors bei Benthosalgen. Kiel. Meeresforsch. **8**, 135—144 (1952). — Jacobi, G.: Untersuchungen über den Stickstoff-Haushalt mariner Braun- und Grünalgen. Diss. Kiel 1953. — Kalle, K.: Meereskundliche chemische Untersuchungen mit Hilfe des Zeissschen Pulfrich-Photometers. III. Methodische Untersuchung der Phosphatgehaltsbestimmung. Ann. Hydr. u. marit. Meteor. **62**, 65—74, 95—102 (1934). — Meereskundliche chemische Untersuchungen mit Hilfe des Zeissschen Pulfrich-Photometers. V. Die Bestimmung des Gesamt-Phosphorgehaltes, des Plankton-Phosphorgehaltes (lebende Substanz) und Trübungsmessungen. Ann. Hydr. u. marit. Meteor. **63**, 195—204 (1935). — Kylin, H.: Untersuchungen über die Biochemie der Meeresalgen. Z. physiol. Chem. **94**, 337—425 (1915). — Moss, B.: Studies in the Genus Fucus. I. On the structure and chemical composition of *Fucus vesiculosus* from three Scottish Localities. Ann. of Bot., N. S. **12**, 267—279 (1948). — Studies in the genus Fucus. II. The anatomical structure and chemical composition of receptacles of *Fucus vesiculosus* from three contrasting habitats. Ann. of Bot., N. S. **14**, 395—412 (1950). — Variation in chemical composition during the development of *Himanthalia elongata* (L) S. F. Gray. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **31**, 29—34 (1952). — Ohle, W.: Zur Vervollkommnung der hydrochemischen Analyse III: Die Phosphorbestimmung. Angew. Chem. **51**, 906—911 (1938). — Parke, M.: Studies on British Laminariaceae. I. Growth in Laminaria saccharina (L). Lamour. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **27**, 651—709 (1948). — Rinck, E., et J. Brouardel: L' iode chez *Laminaria flexicaulis* et les prétendues transmutations de cet élément. Bull. Inst. océanogr. Monaco **1949**, Nr 959. — Steiner, M.: Zur Kenntnis des Phosphatkreislaufes in Seen. Naturwiss. **26**, 723—724 (1938a). — Untersuchungen über den natürlichen Kreislauf des Phosphors. Angew. Chem. **51**, 839 (1938b). — Die Bedeutung autolytischer Abbauvorgänge für die Mineralisierung des organischen Phosphors toter Pflanzensubstanz. Biol. Zbl. **67**, 84 (1948). — Tischer, J.: Über die Bestimmung der Phosphorsäure mittels der Phosphor-Molybdänblau-Methode u. deren Anwendung auf Pflanzenaschen. Z. Pflanzenernährg, Düngung u. Bodenkde, Abt. A **33**, 192—242 (1934).

Professor Dr. C. Hoffmann,
Institut für Meereskunde der Universität Kiel, Hohenbergstraße 2.

Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Biographien von Pflanzensippen

Von Dr. **Rudolf Scharfetter,** tit. o. Professor an der Universität Graz. Mit 80 Textabbildungen. XIII, 546 Seiten. 1953. DM 34.70; Ganzleinen DM 37.50

Inhaltsverzeichnis: Vorwort, zugleich Einleitung. — Schriftenhinweise. — **Die Geschichte einzelner Sippen.** Coniferae. Betulaceae. Fagaceae. Juglandaceae. Salicaceae. Ulmaceae. Urticaceae. Buxaceae. Aristolochiaceae. Ranunculaceae (Helleboroideae, Ranunculoideae). Violaceae. Guttiferae. Rosaceae. Tiliaceae. Aceraceae. Hippocastaneae. Balsaminaceae. Aquifoliaceae. Rhamnaceae. Araliaceae. Primulaceae. Ericaceae. Lentibulariaceae. Labiatae. Globulariaceae. Gentianaceae. Apocynaceae. Oleaceae. Caprifoliaceae. Campanulaceae. Compositae. Liliaceae. — **Allgemeiner Teil:** Pflanzengeschichte als selbständige Teilwissenschaft der Botanik. Die Quellen der Pflanzengeschichte. Phylogenie und Geschichte der Sippen. Zur Methodik der Pflanzengeschichtsschreibung. — Die Verbreitung der Sippen. Massenzentrum. Entwicklungszentrum. Genzentrum. Einstige und heutige Verbreitung. Die Phasen der Arealentwicklung. Die nacheiszeitliche Rückwanderung. Arealbildung und Sippenbildung. Merkmalsgeographie. Verbreitungsregeln. — Pflanzenschicksale. Kosmische Veränderungen. Wirkungen der Veränderungen auf die Pflanzenwelt. — Über die Lebensformen. Einleitung. Die Lebensformen der Blütenpflanzen. — Biologie. Blütenbiologie. Verbreitungsbiologie. — Soziologie. — Phänologie. Rhythmik. Der Johannistrieb, seine Wachstumsweise und Verzweigung. Tropische und extratropische Sproßbildung. Heterophyllie der Johannistriebe. Zwangsrhythmik der Stauden. Laubfall und Laubausbruch. Die phänologischen Methoden der Heimatbestimmung. — Photoperiodizität. — Polyploidie und Apogamie. Allgemeines. Die Entstehung polyploider Sippen. Chromosomenzahl. Polyploidie und Verbreitung der Pflanzen. Polyploidie und Wuchsform. Polyploidie und phylogenetisches Alter. Polyploidie und Entwicklung der Pflanzenwelt. Apogamie. — Nachwort, zugleich Selbstkritik. — Schrifttumshinweise.

SPRINGER-VERLAG / WIEN

Pflanzenphysiologische Praktika

I. Band:

Übungen zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen

Von Dr. **K. Paech,** Professor an der Universität Tübingen, und Dr. **W. Simonis,** Dozent an der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Mit 39 Abbildungen. XI, 252 Seiten. 1952. Ganzleinen DM 24.—

Aus den Besprechungen: In 180 wohlausgewählten Versuchen liefern die Verff. Unterlagen für stoffwechselphysiologische Übungen. Eine derartige Praktikums-Anleitung fehlte bisher im deutschen Schrifttum... Die Beschreibung jedes einzelnen Versuches ist nach „Prinzip der Methodik", „Versuchsmaterial", „Geräte und Reagentien", „Zeitbedarf", „Ausführung" und „Auswertung" aufgegliedert. Dadurch wird die Disposition für den Leiter und den Teilnehmer eines Praktikums zweifellos sehr erleichtert. — Unter den vorgeschlagenen Experimenten finden wir altbewährte klassische Grundversuche (Askenasys Saftsteigeversuch, Blatthälftenmethode u. dgl.), aber auch modernste Methoden werden in überraschendem Umfange nach Möglichkeit berücksichtigt... Fast alle Versuche sind mit den allgemein vorhandenen Laboratoriumsmitteln durchführbar. An vielen Stellen wird auf Improvisationsmöglichkeiten hingewiesen. So wird das Buch auch sicher manches Brauchbare für Schülerübungen an höheren Schulen bieten, wie es in der im Vorwort ausgesprochenen Absicht der Verff. lag. Jeder, der selbst physiologische Praktika geleitet hat, merkt bei der Lektüre des Werkes auf Schritt und Tritt, daß es aus der praktischen Unterrichtserfahrung heraus geschrieben ist. Alles in allem: ein wohlgelungenes Werk, welches uns den Verff. gegenüber zu Dank verpflichtet. Möge es kräftig zur „Klärung und Einübung der Versuchstechnik an kausal aufgeklärten Vorgängen" beitragen, wie es die beiden Autoren im Auge hatten.

„Berichte über die gesamte Biologie, Abt. A: Biologie"

II. Band:

Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze

Von Dr. **Siegfried Strugger,** o. Professor für Botanik an der Universität Münster. Zweite Auflage. Mit 148 Abbildungen. VIII, 225 Seiten. 1949.
DM 24.—; Ganzleinen DM 27.60

Aus den Besprechungen: Bei der heute sehr umfangreichen Literatur über pflanzenphysiologische Untersuchungen sind Einführungen und Übersichten ihrer Methodik sehr wichtig. Daher ist die Neuauflage des Struggerschen Praktikums zu begrüßen, vor allem, weil es auch mit den Forschungsmitteln, die in der letzten Zeit entwickelt worden sind, vertraut macht. Man findet einen kurzen Abriß über Bau und Anwendungsmöglichkeiten der verschiedenen mikroskopischen Einrichtungen, die besonders für denjenigen, der sich in die Zellphysiologie einarbeiten will, sehr wertvoll sind ... Als besonders wertvoll wird man empfinden, daß zu jedem Versuch ausführliche Literaturhinweise gegeben werden. Eine Reihe guter Abbildungen, vor allem Mikrophotographien, veranschaulichen die Versuchsergebnisse.

„Naturwissenschaftliche Rundschau"

IV. Band:

Übungen zur Wachstums- und Entwicklungsphysiologie der Pflanze

Von Dr. **Ulrich Ruge,** o. Professor für Botanik an der Hochschule für Gartenbau und Landeskultur Hannover. Dritte, verbesserte Auflage. Mit 63 Abbildungen. XIII, 166 Seiten. 1951. Ganzleinen DM 19.60

Aus den Besprechungen: Das bekannte und geschätzte Buch liegt nunmehr nach kurzer Zeit in 3. Auflage vor. Einzelne Versuche wurden durch wichtiger erscheinende ersetzt, der Text wurde an einzelnen Stellen überarbeitet und die Zahl der Abbildungen — es handelt sich vorwiegend um sehr gute Photographien — auf 63 erhöht. Die Ausstattung ist auch sonst hervorragend.

Professor Dr. L. Geitler-Wien in „Österreichische Botanische Zeitschrift"

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegen zwei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin - Göttingen - Heidelberg, bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.